

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD — LYON

— MEDECINE —

U.E.R. LYON SUD-OUEST

Année 1977 - N° 3 58

LA MUCOPOLYSACCHARIDOSE DE TYPE VII PAR DÉFICIT EN BÉTA-GLUCURONIDASE

(à propos de deux observations personnelles)

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 13 Septembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Georges TEYSSIER

né le 5 Janvier 1946

à SAINT-ETIENNE

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON

- MÉDECINE -

U.F.R. LYON SUD-OUEST

ANNA 1577 - 10

LA MUCOPOLYSACCHARIDOSE DE TYPE VII

PAR DÉFICIT EN

BÉTA-GLUCURONIDASE

Thèse de Doctorat en Médecine

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554225_0018

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD — LYON

— MEDECINE —

U.E.R. LYON SUD-OUEST

Année 1977 - N°

LA MUCOPOLYSACCHARIDOSE DE TYPE VII PAR DÉFICIT EN BÉTA-GLUCURONIDASE

(à propos de deux observations personnelles)



présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 13 Septembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Georges TEYSSIER

né le 5 Janvier 1946

à SAINT-ETIENNE

UNIVERSITEIT VAN LEIDEN

LIBRARY

DEPARTMENT OF BIOLOGY

LEIDEN, THE NETHERLANDS

LA MUCOPOLYSACCHARIDASE DE TYPE VI
PAR DÉCIT IV
BÉTA-GLUCURONIDASE

Thèse présentée à l'Université de Leiden



1964

RECEIVED 1964 JAN 15

DEPARTMENT OF BIOLOGY

LEIDEN, THE NETHERLANDS

1964

LIBRARY

DEPARTMENT OF BIOLOGY

LEIDEN, THE NETHERLANDS

U.E.R. DE MEDECINE LYON SUD OUEST

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président : Mr le Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Mr le Professeur EL BAZ

Deuxième Vice-Président : Mr B. ROUSSET, chercheur.

Troisième Vice-Président : Mr R. LOPEZ, étudiant.

Secrétaire Général de l'Université : Mr J. RAMBAUD, Administrateur civil.

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R.)

U.E.R. de Médecine GRANGE-BLANCHE : Mr le Docteur B. SALLE, Maître de Conférences.

U.E.R. de Médecine ALEXIS CARREL : Mr le Professeur R. MORNEX

U.E.R. de Médecine LYON NORD : Mr le Docteur J.P. NEIDHARDT, Maître de Conférences.

U.E.R. de Médecine SUD OUEST : Mr le Professeur J. NORMAND

U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques : Mr le Professeur C.A. BIZOLLON

U.E.R. des Techniques de Réadaptation : Mr A. MORGON, Maître de Conférences

U.E.R. de Biologie Humaine : Mr J.P. REVILLARD, Maître de Conférences

U.E.R. d'Education Physique et Sportive : Mr A. MILLON, Professeur EPS

U.E.R. des Sciences Odontologiques : Mr le Docteur R. VINCENT

U.E.R. de Mathématiques : Mr le Professeur E. COMBET

U.E.R. de Physique : Mr le Professeur J. DELMAU

U.E.R. de Chimie Biochimie : Mr le Professeur J. HUET

U.E.R. des Sciences de la Nature : Mr le Professeur R. GINET

U.E.R. des Sciences Physiologiques : Mr le Professeur J.F. WORBE

U.E.R. de Physique Nucléaire : Mr le Professeur M. GUSAKOW

I.U.T. 1 : Mr le Professeur B. POUYET

I.U.T. 2 : Mr J. GALLET, Directeur ENSAM

Observatoire de Lyon : Mr G. MONNET, Astronome Adjoint

U.E.R. de Mécanique : Mr le Professeur G. COMTE-BELLOT

EXAMINATEURS DE LA THESE.

Président : Monsieur le Professeur F. LARBRE.

Assesseurs : Monsieur le Professeur F. FREYCON.

Monsieur le Professeur Agrégé M. HERMIER.

Monsieur le Professeur Agrégé P. GUIBAUD.

A mes parents

Un peu d'inquiétude qui disparaît ce jour...

A ma femme

A la douceur qu'elle donne au foyer.

A Stéphane, Pierre Guillaume, Elodie

Déjà tant de bonheur. Autant d'espoirs.

A mes beaux parents, oncle et tante

Pour leur exemple de famille unie.

A Jean Paul PERRIN

l'ami de toujours.

A André EMONOT

qui ne s'essouffle ni sur les champs ni sur les touches !

A mes examinateurs et maîtres.

A Monsieur le Professeur F. LARBRE.

Il nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Par ses vastes connaissances il nous a appris à discuter les idées reçues, par son expérience clinique il nous a convaincu de respecter toujours le bien être des enfants malades.

Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueux dévouement.

A Monsieur le Professeur F. FREYCON.

Il nous a initié à la pédiatrie dans un encadrement parfait témoin de la rigueur de son enseignement et de son action. Nous le remercions de nous avoir confié ce travail.

A Monsieur le Professeur Agrégé M. HERMIER.

Il nous a toujours accueilli avec sollicitude, disponible pour nous conseiller. Nous le remercions de la formation qu'il nous a donnée.

A Monsieur le Professeur Agrégé P. GUIBAUD.

Il nous a étonné aux visites par l'étendue de ses connaissances et par la justesse de son raisonnement. Nous le remercions particulièrement des conseils qu'il nous a donné pour ce travail et du temps qu'il nous a consacré.

A mes maîtres dans les hôpitaux

Externat :

Monsieur le Professeur J. LECUIRE
Monsieur le Professeur H. LIARAS
Monsieur le Docteur B. MULLER
Monsieur le Docteur P. BOUQUIN
Monsieur le Docteur F. POTTON
Monsieur le Docteur J. DUVERNE

Interne suppléant :

Monsieur le Docteur G. RIFFAT
Monsieur le Docteur M. DROGUE

Internat .:

Monsieur le Docteur H. VERNEYRE
Monsieur le Docteur J. DUVERNE
Monsieur le Professeur F. FREYCON
Monsieur le Professeur R. FRANCOIS
Monsieur le Professeur Agrégé M. HERMIER
Monsieur le Professeur P. MONNET
Monsieur le Professeur Agrégé B. SALLE
Monsieur le Professeur M. JEUNE
Monsieur le Professeur Agrégé M. DAVID
Monsieur le Professeur F. LARBRE
Monsieur le Professeur Agrégé P. GUIBAUD

Nous tenons également à remercier pour leur aide

Monsieur le Docteur R. GODDON
Monsieur le Docteur H. PLAUCHU

A Madame I. MAIRE

Elle s'est occupée de tous les dosages enzymatiques et nous a aidé dans la rédaction des résultats.

Abréviations utilisées.

Asp : aspartique
CHS : chondroïtine sulfate
CH6S : chondroïtine 6 sulfate
CH4S : chondroïtine 4 sulfate
D gal N : N galactosamine
D glc N : N glucosamine
D glc UA : Acide glucuronique
DS : déviation standard
D.S. : dermatan sulfate
GAG : glycosaminoglycans
Gal : galactose
H.S. : héparan sulfate
K.S. : kératan sulfate
L Id UA : acide iduronique
Mann : mannose
MPS : mucopolysaccharides
P. : poids
PC : périmètre crânien
QI : quotient intellectuel
Ser. : sérine
S 35 : sulfate 35
T : taille
Thr : thréonine
Xyl : xylose.

INTRODUCTION

Le diagnostic d'une maladie de surcharge peut être évoqué sur l'examen clinique rapidement complété par l'étude radiographique. La découverte de telles maladies, nouvelles, a fait rechercher des moyens plus fins pour arriver au diagnostic et l'on s'est basé sur l'étude des éléments mêmes de la surcharge et du métabolisme de ces produits. Mais des produits de surcharge identiques ont été trouvés dans des maladies différentes et finalement c'est souvent à une étude encore plus poussée que l'on s'adresse en dosant les enzymes lysosomiales.

Nous avons eu l'occasion d'examiner deux filles de la même fratrie suivies en collaboration dans les services du Professeur F. FREYCON (Saint-Etienne) et du Professeur F. LARBRE (Lyon).

La première fille examinée peu après la naissance présente des caractères faisant évoquer une maladie de surcharge ; les examens biochimiques montreront qu'il s'agit d'une mucopolysaccharidose de type VII. La fratrie est alors systématiquement examinée et on trouve une soeur porteuse du même déficit enzymatique. La rareté de ce type de mucopolysaccharidose nous a semblé justifier une étude détaillée ; seulement 4 observations ont été décrites dans la littérature. Le diagnostic biochimique de cette maladie est aisé contrastant avec une clinique difficile car faite d'éléments variables.

Nous nous proposons d'étudier cette maladie à travers le plan suivant.

Chapitre I.

- A. Les mucopolysaccharides - Etude biochimique et métabolisme.
- B. Rappel sur les maladies de surcharge.
- C. Les différentes mucopolysaccharidoses.
- D. La betaglucuronidase - Enzyme déficiente dans le type VII

Chapitre II.

- A. Les moyens d'étude.
- B. Les observations personnelles.
- C. Les observations de la littérature.

Chapitre III.

- A. Essai d'étude synthétique.
- B. Discussion de quelques problèmes de diagnostic et de points particuliers.
- C. Etude génétique.
- D. Problèmes thérapeutiques.

Conclusion.

CHAPITRE I

- A - Les mucopolysaccharides. Etude biochimique et métabolisme.
 - B - Rappel sur les maladies de surcharge.
 - C - Les différentes mucopolysaccharidoses.
 - D - La betaglucuronidase - Enzyme déficiente dans le type VII.
-

A - LES MUCOPOLYSACCHARIDES. ETUDE BIOCHIMIQUE - METABOLISME

I - INTRODUCTION

Les tissus d'une manière générale et plus spécialement l'ensemble des organisations pluricellulaires groupées sous le nom de tissus conjonctifs sont formés principalement de cellules, de formations fibrillaires et de substance fondamentale ou matrice cellulaire : les molécules qui composent cette dernière sont impliquées dans la protection, l'organisation, l'assemblage et les transferts intercellulaires d'information dans les tissus en voie de développement ou matures. Dans cette matrice prédominent les associations protéoglyciques dont font partie les mucopolysaccharides ou glycosaminoglycans.

II - LES DIFFERENTS MUCOPOLYSACCHARIDES.

Les MPS sont des polyosides hétérogènes résultant de la condensation d'un nombre élevé de sous-unités disaccharidiques élémentaires constituées généralement par une molécule d'acide hexuronique et une molécule hexosamine, elle-même porteuse d'un ou plusieurs groupements sulfatés. Ils sont réunis à des protéines par des liaisons électrovalentielles ou covalentielles. Ils ont un caractère acide très marqué ; les étapes de leur biosynthèse sont bien connues de même que les enzymes impliquées dans la dégradation.

Il en existe plusieurs sortes comme le montre le tableau I. On exposera la structure du dermatan sulfate, de l'héparan sulfate et des chondroïtines sulfate qui sont les GAG excrétés en quantité anormale dans la maladie qui nous intéresse.

1. DERMATAN SULFATE. (Figure 1)

MPS extrait de la peau, des tendons, des valvules cardiaques, de la paroi aortique etc...

L'unité disaccharidique élémentaire résulte de la condensation de l'acide L-iduronique et d'une molécule de N-acétylgalactosamine-4-sulfate réunis par une liaison iduronosyl Beta(1-3). Outre cette séquence fondamentale il présente deux particularités intéressantes qui sont :

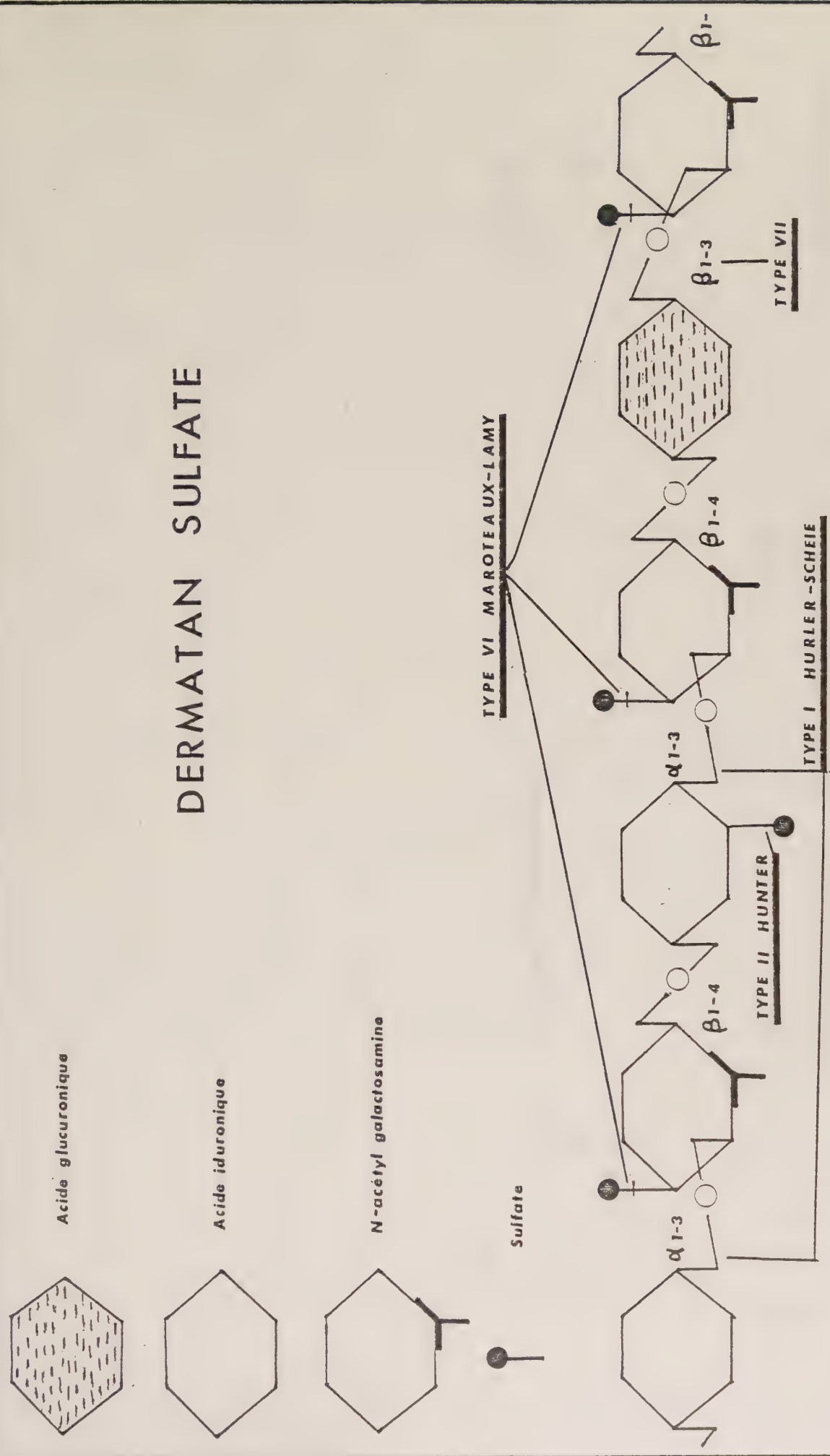
- l'existence de zones hybrides où des molécules d'acide glucuronique peuvent prendre la place de l'acide iduronique dans la structure alterne,
- la présence de groupements sulfatés sur les résidus d'acide uronique et non pas uniquement sur les galactosamines.

L'union du dermatan sulfate avec une séquence polypeptidique dans la constitution d'une protéodermatan sulfate est caractéristique : le MPS s'unit à un résidu séryl du polypeptide par l'intermédiaire d'une séquence trisaccharidique (xylose-galactose-galactose). C'est au voisinage des zones de branchement avec le polypeptide que le dermatan sulfate se présente avec le maximum de structures hybrides contenant l'acide glucuronique. Le dermatan sulfate participe directement à la formation et à l'orientation des fibres collagènes.

NOM	SUCRE AMINE	ACIDE URONIQUE	SULFATE	AMINO- SUBSTITUTION	LIAISON		LIAISON A LA PROTEINE
					URONIDE	HEXOSAMINE	
acide hyaluronique	D Glc N	D Glc U		N - Ac	β 1-3	β 1-4	
chondroïtine	D Gal N	D Glc U		N - Ac	β 1-3	β 1-4	Gal-Gal-Xyl-Ser
chondroïtine-4-sulfate	D Gal N	D Glc U	O - SO ₄	N - Ac	β 1-3	β 1-4	Gal-Gal-Xyl-Ser
chondroïtine-6-sulfate	D Gal N	D Glc U	O - SO ₄	N - Ac	β 1-3	β 1-4	Gal-Gal-Xyl-Ser
dermatan sulfate	D Gal N	L Id U D Glc U	O - SO ₄ O - SO ₄	N - Ac	α 1-3	β 1-4	Gal-Gal-Xyl-Ser
héparan sulfate	D Glc N	D Glc U L Id U	N - SO ₄ O - SO ₄	N - Ac N - SO ₄	β 1-4 α 1-4	α 1-4	Gal-Gal-Xyl-Ser
héparine	D Glc N	D Glc U L Id U	N - SO ₄ O - SO ₄	N - SO ₄ N - Ac	β 1-4 α 1-4	α 1-4 α 1-4	Gal-Gal-Xyl-Ser
kératan sulfate I (cornée)	D Glc N	Gal Mann	O - SO ₄	N - Ac	β 1-4	β 1-3	Glc - N-Ac-Asp-NH ₂
kératan sulfate II (squelette)	D Glc N D Gal N	Gal Mann	O - SO ₄	N - Ac	β 1-4	β 1-3	Gal - N-Ac-Ser Gal - N-Ac-Thr

TABLEAU I

Les mucopolysaccharides (structure)



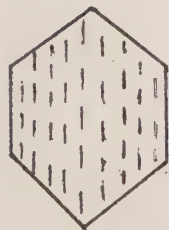
(disaccharide de base habituel)

(variante bisulfate à 5-7%)

($\beta 1-3$ avec acide D-glucuronique
élément chondroïtine sulfate)

← --- chaîne polymérique d'environ 100 molécules →

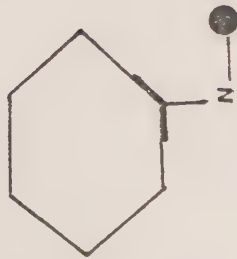
FIGURE 1



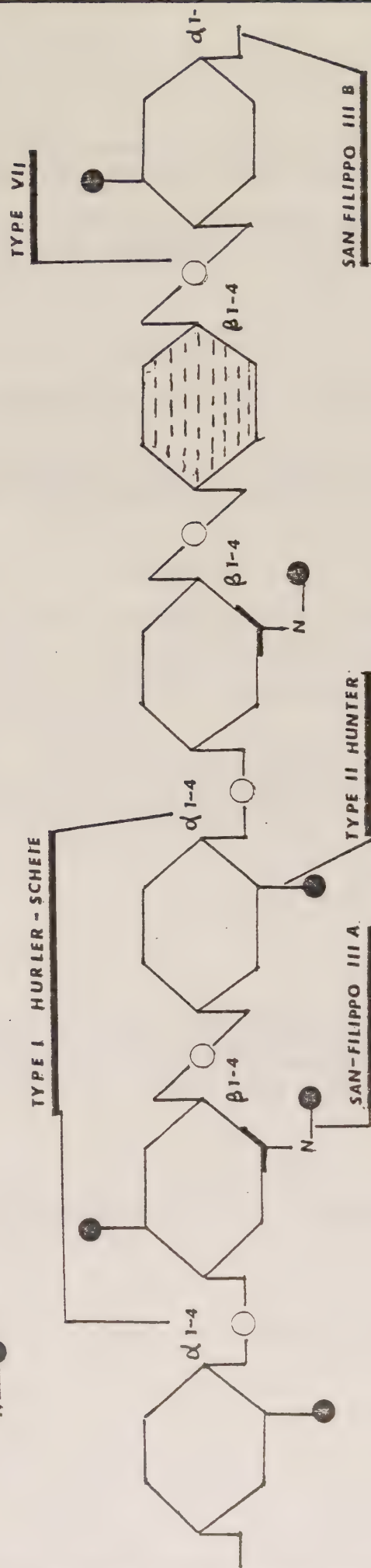
Acide glucuronique



Acide iduronique



Glucosamine-N-sulfate



- 4 (unité disaccharidique de base) β 1-4 (30 à 50% d'acide iduronique la plupart) β 1-4 (acide glucuronique non sulfaté)
trisulfaté en C2.

FIGURE 2

2. HEPARAN SULFATE. (Figure 2)

Il a une distribution extracellulaire et a aussi été isolé de la paroi des vaisseaux (aorte), du cerveau, de certaines tumeurs gliales etc...

Sa structure est proche de l'héparine, les éléments disaccharidiques sont formés d'acide glucuronique ou d'acide iduronique et de glucosamine-N-sulfate ou N-acétylé en quantité variable.

3. CHONDROÏTINE 4 SULFATE (se reporter à la figure 1).

Elle est un constituant essentiel du cartilage et des os en voie de croissance, on l'a aussi extraite de la peau.

L'unité disaccharidique élémentaire est la chondrosine formée de l'acide D-glucuronique et de N-acétyl-galactosamine-4-sulfate.

4. CHONDROÏTINE 6 SULFATE (se reporter à la figure 1).

Isolée dans le cordon ombilical, les tendons et le cartilage, elle est aussi formée de chondrosine.

La sulfatation se fait en position 6. Le disaccharide de base est identique à celui de la chondroïtine 4 sulfate.

Les chondroïtines sulfate s'associent au collagène. Ces MPS ont un rôle de soutien dans l'élaboration de la structure fibrillaire du collagène et par leur capacité à fixer les ions calcium ils collaborent à l'ossification.

III - METABOLISME.

1. L'ANABOLISME.

La séquence de la synthèse est bien définie, elle a lieu au niveau de l'appareil de Golgi. Elle débute par la fixation des sucres au niveau de la protéine puis l'élongation de la chaîne avec les osides nécessaires, chaque réaction mettant en jeu une enzyme déterminée. Les facteurs régulateurs de cette biosynthèse sont mal connus.

2. LA DEGRADATION.

Parallèle à l'anabolisme elle nécessite l'action d'enzymes spécifiques.

3. ELIMINATION URINAIRE.

Les CH 4S et CH 6S sont les principaux constituants de l'urine normale.

B - DEFINITION DU CADRE DES MALADIES LYSOSOMIALES.

I - INTRODUCTION

Ce concept fut introduit par HERS (29) en 1965 et VAN HOFF. Ils suggèrent que les vacuoles hépatiques trouvées dans la maladie de Hurler sont en réalité des lysosomes, réalisant une maladie de stockage due à l'absence d'une enzyme lysosomiale de dégradation.

MAC KUSICK en 1972 donne les caractéristiques des maladies lysosomiales (41) :

- il existe toujours un stockage évident,
- le matériel stocké est habituellement hétérogène et enfermé dans une vésicule fermée par une membrane,
- divers tissus sont généralement affectés,
- la maladie est habituellement progressive.

II - LE LYSOSOME

Le lysosome est une particule cytoplasmique entourée d'une membrane, il est présent dans toutes les cellules. Il contient des enzymes hydrolytiques (environ 40) qui dégradent les protéines, les polysaccharides, les acides nucléiques dans un pH acide.

Des vacuoles contenant les composants cellulaires qui doivent être dégradés ou les matériaux étrangers qui sont introduits dans la cellule, fusionnent avec le lysosome primaire formant le lysosome secondaire. Ainsi la cellule est isolée et non soumise à l'action de ces enzymes qui exécutent leur rôle digestif en produisant des molécules plus petites qui passent à travers la membrane et sont utilisées par la cellule. Les lysosomes primaires peuvent aussi fusionner avec la membrane et verser leurs enzymes en extra-cellulaire.

III - PATHOLOGIE LYSOSOMIALE

S'il existe un défaut génétique causant un déficit d'une enzyme particulière, le lysosome secondaire s'engorge de matériel non dégradé. La fonction cellulaire peut être altérée et compromise par l'hypertrophie lysosomiale. La distribution du substrat non dégradé détermine les organes affectés.

On connaît actuellement plus de vingt-cinq maladies génétiques qui ont des profils biochimiques distincts. La nomenclature définie en 1969 et concernant la lignée des mucopolidoses et des mucopolysaccharidoses a été récemment modifiée sous l'influence de MAROTEAUX (46) avec l'introduction des oligosaccharidoses. Le tableau II résume les principales maladies de surcharge lysosomiales (36).

Ainsi se trouve isolé le cadre particulier des mucopolysaccharidoses.

MALADIE	DEFICIT ENZYMATIQUE	METABOLITES PRINCIPALEMENT ACCUMULES
GLYCOGENOSE type 2 maladie de Pompe	alpha-glucosidase	glycogène
SPHINGOLIPIDOSES GM-1 gangliosidose type 1 infantile type 2 juvénile GM-2 gangliosidose Tay-Sachs Sandhoff-Jatzkewitz Sulfatidose leucodystrophie métachro- matique déficit multiple en sulfa- tase Maladie de Krabbe Maladie de Fabry Maladie de Gaucher forme infantile forme adulte Maladie de Nieman Pick Maladie de Farber	GM1gangliosidase β galactosidase hexosaminidase A hexosaminidase A et B arylsulfatase A arylsulfatase A,B,C, steroidsulfatase, iduronate sulfatase, heparan-N-sulfatase galactocérébroside β galactosidase alphagalactosidase total β taglucosidase β taglucosidase liée à la membrane sphingomyelinidase céraminidase	GM1ganglioside GM2ganglioside GM2ganglioside, globoside sulfatide sulfatide, stéroïdsulfate, héparan sulfate, dermatan sulfate galactocérébroside ceramide tri-hexoside glucocérébroside sphingomyeline céramide
MUCOLIPIDOSE I cell disease	déficit cellulaire en nombreux enzymes, augmentation extracellulaire de ceux ci	mucopolysaccharides-glycolipides
OLIGOSACCHARIDOSES type 1 Fucosidose type 2 Mannosidose Aspartylglycosaminurie	alpha-L-fucosidase alpha-mannosidase aspartylglucosamine hydrolase	fucoglycopeptide, fucooligosaccharides fucosyl, sphingolipides mannose avec oligosaccharides aspartyl 2 déoxy 2 acetamido glycosyl amine
AUTRES Maladie de Wolman Déficit phosphatase acide	lipase acide p.a. lysosomiale	ester cholestérol triglycérides ester phosphate

TABLEAU II . Principales maladies de surcharge lysosomiale en dehors des
mucopolysaccharidoses.

C - RAPPEL SUR LES MUCOPOLYSACCHARIDOSES.

Tableau III d'après DORFMAN et MATALON (16)

Ce sont des maladies familiales caractérisées biochimiquement par l'accumulation tissulaire et l'excrétion urinaire accrue de mucopolysaccharides acides à la suite d'une déficience génétique déterminée des enzymes de dégradation de ces macromolécules (21).

1. RAPPEL CLINIQUE.

Les maladies de Hurler et de Hunter.

Nanisme modéré, dysmorphie faciale importante, dysostose multiple, hépatosplénomégalie, fréquence des hernies, opacités cornéennes, troubles psychiques représentent leurs points communs.

La différence est d'ordre évolutif : la maladie de Hunter est d'apparition plus tardive (vers l'âge de 2 à 3 ans) de sévérité moins importante et d'évolution plus lente que la maladie de Hurler pour laquelle la mort survient avant l'âge de 10 ans. L'évolution dans le Hunter peut être prolongée avec une survie dépassant l'âge de 30 ans.

La maladie de Scheie.

Est une forme frustrée de maladie de Hurler. Les signes apparaissent vers l'âge de 10 ans, déformation des pieds et des mains, opacités cornéennes, fréquence des hernies, les traits du visage sont grossiers, l'hépatosplénomégalie est très modérée, la croissance est normale de même que l'intelligence, fréquence de l'atteinte cardiaque à l'âge adulte. La dysostose est localisée aux extrémités. Le pronostic vital est bon.

La maladie de Sanfilippo.

Elle débute chez un enfant de 2 à 3 ans jusque là en bonne santé par l'arrêt du développement psychomoteur. La dysmorphie faciale est moins prononcée que celle du Hurler, l'hépatomégalie est importante, les opacités cornéennes ne sont souvent trouvées qu'à la lampe à fente, la surdité est fréquente. L'arrêt du développement statural conduit à un nanisme et les troubles psychiques évoluent vers l'idiotie profonde, la mort survient avant l'âge de la puberté chez un malade grabataire et à la suite d'infections bronchopulmonaires. Les anomalies osseuses sont discrètes.

La maladie de Morquio.

Elle débute vers la deuxième année de la vie. Le massif facial inférieur est hypertrophié, le tronc et les membres sont raccourcis, parfois limitations articulaires. On trouve une hépatosplénomégalie, les opacités cornéennes sont fréquentes de même que la surdité. Le nanisme est prononcé et la taille adulte ne dépasse pas un mètre.

La maladie de Maroteaux-Lamy.

Ressemble à la maladie de Morquio à l'âge adulte mais la dystrophie faciale est plus prononcée. L'arrêt de croissance est important. L'aspect radiologique est le meilleur élément du diagnostic différentiel : la déformation des vertèbres et des épiphyses des os longs est discrète, l'extrémité supérieure des os métacarpiens n'a pas l'aspect conique de la maladie de Morquio.

La mucopolysaccharidose de type VII.

Elle fait l'objet de notre étude.

MUCOPOLYSSACHARIDOSE	GAG ACCUMULES	ENZYME DEFICIENTE
Maladie de HURLER ————— Maladie de SCHEIE	HS DS ————— HS DS	ALPHA-L-IDURONIDASE
Maladie de HUNTER	HS DS	L-IDURONOSULFATE SULFATASE
Maladie de SAN FILIPPO forme A forme B forme C	HS HS HS	SULFAMINIDASE ALPHA-N-ACETYLGLUCOSAMINIDASE ALPHA-GLUCOSAMINIDASE
Maladie de MORQUIO	KS CS	N-ACETYLHEXOSAMINE-6-SULFATE SULFATASE
Maladie de MAROTEAUX-LAMY	DS	N-ACETYLHEXOSAMINE-4-SULFATE SULFATASE
TYPE VII	DS HS CS	BETA-GLUCURONIDASE

TABEAU III . GLYCOSAMINOGLYCANS ACCUMULES ET ENZYMES DEFICIENTES AU COURS
DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES (d'après Dorfman et Matalon)

2. ETUDE BIOLOGIQUE.

a. Les MPS urinaires.

Les différentes éliminations sont indiquées dans le tableau III

b. Etude enzymologique.

Deux méthodes ont permis de progresser, la culture des fibroblastes cutanés et la recherche des facteurs de correction.

- Dans les fibroblastes en culture on peut identifier qualitativement le GAG accumulé ; l'étude avec le soufre radioactif (S 35) rajouté au milieu de culture souligne le déséquilibre du fait de la dégradation déficiente. L'activité de l'enzyme peut être dosée dans les fibroblastes.
- La découverte des facteurs de correction par FRANCAVTONI, HALL et NEUFELD en 1968 a contribué à l'établissement de la nature de l'enzymopathie (19). La correction du trouble de la dégradation des GAG dans les fibroblastes hurlériens par l'apport de fibroblastes huntériens est le fait d'un facteur diffusible identifié plus tard à une enzyme.

3. ETUDE GENETIQUE.

Ces maladies sont transmises suivant le mode récessif autosomique à l'exception de la maladie de Hunter ou l'hérédité est récessive et liée au sexe.

D - GENERALITES SUR LA BETA-GLUCURONIDASE.

HALL, CANTZ et NEUFELD (27) ont montré chez des patients porteurs d'une mucopolysaccharidose de type VII l'accumulation dans leurs fibroblastes de GAG-S35, cette anomalie étant corrigée par l'addition aux cultures de fibroblastes de beta-glucuronidase d'origine bovine. Ces mêmes constatations ont été faites avec l'enzyme d'origine humaine extraite des urines, du plasma ou des plaquettes.

GUS ; E.C.3.2.1.31. est la dénomination de l'enzyme dans la nomenclature internationale.

I - LA REPARTITION DANS LES ORGANES.

La beta-glucuronidase a une distribution très large par l'intermédiaire des lysosomes où DE DUVE (13) montra sa présence. Différents travaux l'ont étudiée dans des tissus variés : peau, foie, rein, muqueuse intestinale, leucocytes, sérum, urines, liquide amniotique.

II - LA REPARTITION INTRA-CELLULAIRE.

Dans une même cellule il existe différentes localisations sub-cellulaires : lysosomes et microsomes (37, 23).

Les études faites chez la souris YBR qui ne possède pas la forme microsomiale de l'enzyme, ont permis de démontrer l'existence d'une protéine dénommée ESAGYN nécessaire dans la liaison enzyme-membrane (64).

III - STRUCTURE. ACTIVITE.

La beta-glucuronidase est une glycoprotéine très polarisée. Chez la souris l'enzyme est représentée sous une structure tétramérique, l'enzyme lysosomiale a un poids moléculaire de 280.000 et comporte 4 sous-unités de poids moléculaire identique. La forme microsomiale comporte des chaînes M1 M2 M3 M4, l'enzyme étant aussi un tétramère moins négativement chargé que la forme L. On ne connaît pas la structure chez l'homme, on sait par contre que la forme lysosomiale est prédominante. Des études faites chez le rat montrent que certains anti-inflammatoires libèrent les enzymés des lysosomes (57).

La structure de base de l'enzyme est stable, la structure terminale est variable ; il existe de nombreuses variantes de l'enzyme expliquant sa microhétérogénéité.

L'activité que l'on évalue dans le sérum est une mesure globale d'une activité à composantes moléculaires multiples : l'existence des isoenzymes est mise en évidence par des artifices biochimiques, on a démontré que l'activité de l'enzyme était variable en fonction de son lieu d'origine, activité 10 à 50 fois plus efficace pour l'enzyme plaquettaire que pour l'enzyme placentaire ou hépatique (24). L'enzyme placentaire se présente sous forme d'une seule isoenzyme différente de l'isoenzyme plasmatique (8).

CHROMOSOME 7

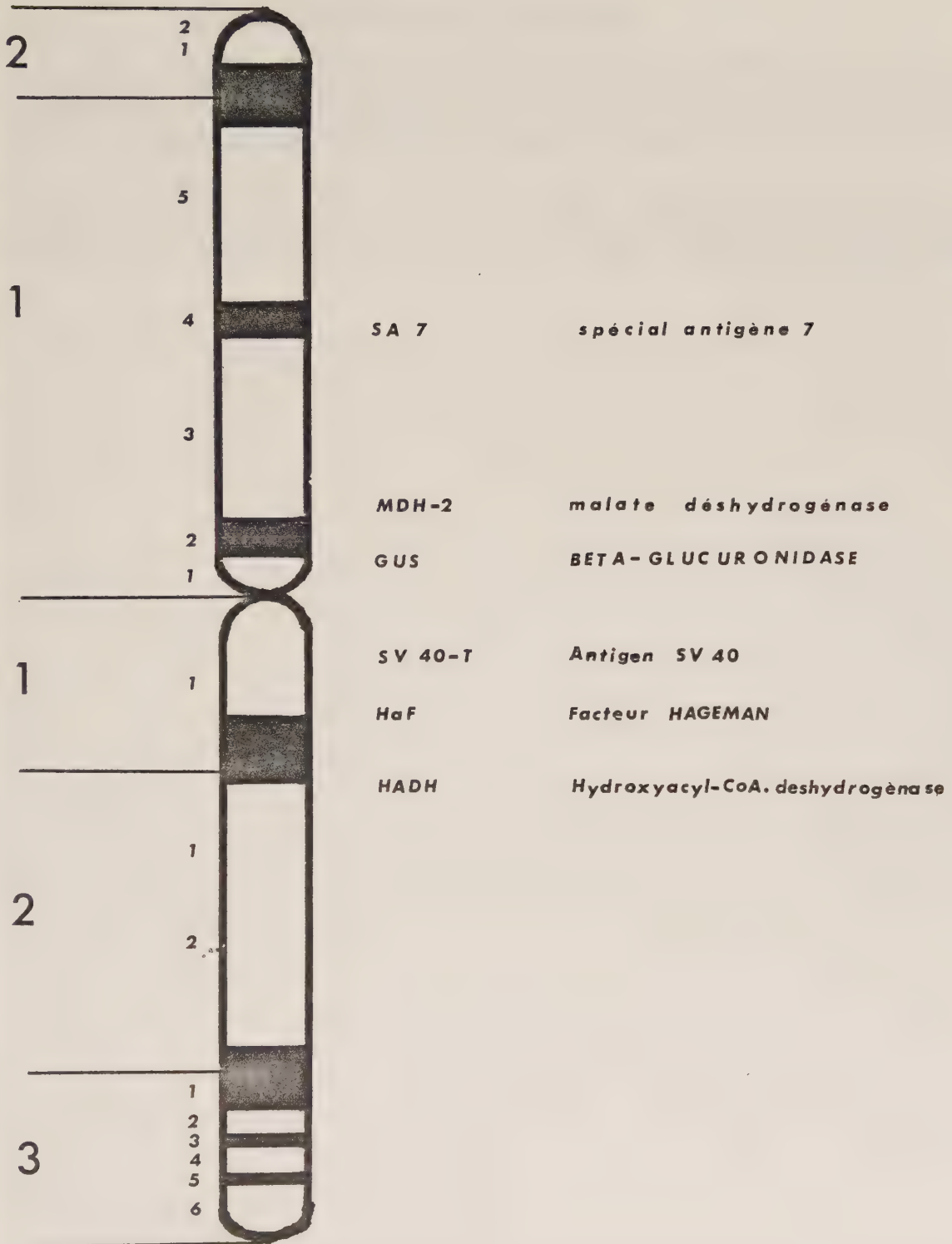


FIGURE 3

IV - ACTION

L'enzyme est spécifique d'un type de liaison donné : beta-d-glucuronide.

V - LOCALISATION CHROMOSOMIQUE.

Le gène de structure est localisé sur le chromosome 7. Cette étude a été menée grâce à l'hybridation cellulaire (20, 5). La figure 3 montre le chromosome 7 et les différents gènes identifiés à cette époque (43). Il n'y a pas pour l'instant de possibilité d'étude de linkage.

Chez la souris il existe en plus un gène Eg. dont la fonction est nécessaire pour la formation de la forme microsomiale de l'enzyme par l'intermédiaire de la protéine Esagyn : rien n'a encore été démontré chez l'homme.

CHAPITRE II

- A - Les moyens d'étude
 - B - Les observations personnelles
 - C - Les observations de la littérature
-

A - LES MOYENS D'ETUDE

Nous envisagerons rapidement les moyens radiologiques et les techniques particulières hématologiques pour détailler essentiellement les méthodes biochimiques et surtout enzymologiques.

I - LES SIGNES RADIOLOGIQUES (figure 4)

Les signes radiologiques dans ces maladies de surcharge de type mucopolysaccharidoses sont un élément d'orientation dans la conduite diagnostique, les modifications squelettiques s'intègrent au cadre dit de dysostose multiple (57).

Rappel des éléments définis par SPRANGER :

- hyperostose de la voûte crânienne,
- élongation en forme de J de la selle turcique,
- corps vertébraux d'allure dysmature et dysplasique ,
- élargissement costal, modification de la forme des omoplates,
- déformation pelvienne (coxa valga),
- raccourcissement des métacarpiens proximaux,
- obliquité des épiphyses distales des avant bras
- os longs : modelage irrégulier de la diaphyse
- os tubulaires courts,
- dysplasie épiphysaire,
- structure osseuse ostéoporotique et trabéculatation osseuse grossière.

Ces modifications squelettiques s'aggravent avec l'âge, l'intensité des signes varie en fonction du type de mucopolysaccharidose.

II - LES CELLULES DE SURCHARGE.

1. ETUDE DANS LE SANG.

On trouve dans le sang des lymphocytes dont le cytoplasme contient quelques vacuoles souvent groupées à un pôle de la cellule et qui sont centrées par un point plus sombre à la coloration du May-Grunwald-Giemsa, ce sont les cellules de GASSER ; quelques fois ces vacuoles sont vides.

L'anomalie de ALDER se traduit par de volumineuses granulations azurophiles qui peuvent s'observer dans les différentes lignées leucocytaires.

2. ETUDE DANS LA MOELLE.

On peut observer des cellules plasmocytaires dont le cytoplasme contient de nombreuses vacuoles centrées par un point sombre ou un bâtonnet, ce sont les cellules de BUHOT.

Les grosses cellules réticulaires à grosses granulations azurobasophiles non métachromatiques sont les cellules de GASSER II.

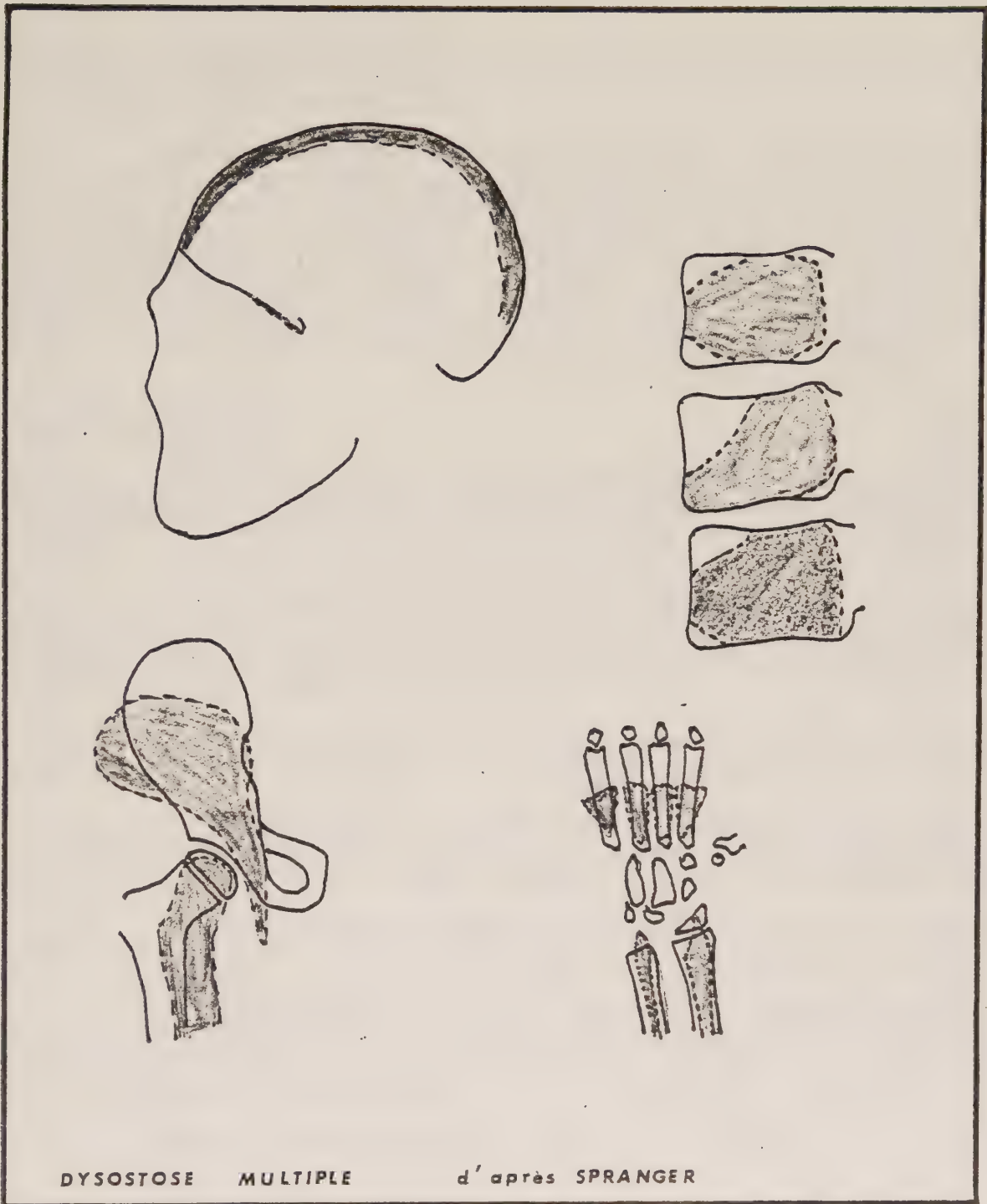


FIGURE 4

III - DOSAGE ET IDENTIFICATION DES MUCOPOLYSACCHARIDES URINAIRES.

1. GENERALITES.

A l'état physiologique une petite quantité de GAG est éliminée dans les urines. Différents auteurs ont étudié la composition en MPS des urines avec des résultats différents (17, 28).

MAROTEAUX considère comme significativement élevé un taux dépassant par 24 heures, 20 milligrammes par gramme de créatinine. Des facteurs peuvent influencer ce taux (50) : le jeûne strict réduit leur excrétion de moitié alors qu'un apport de sel les rétablit à un taux normal ; l'âge influence la quantité excrétée mais aussi la qualité (42), l'excrétion des MPS paraît diminuée au bout d'un certain nombre d'années. On trouve en majeure partie des chondroïtine sulfate et en quantité mineure de l'héparan sulfate, du kératan et du dermatan sulfate et des produits de désulfatation de la chondroïtine sulfate.

2. ETUDE QUANTITATIVE.

Chez nos malades les dosages ont été confiés à l'Institut Pasteur de Lyon (qui utilise la technique décrite par MANUEL et coll. (44)) et au Docteur HUMBEL (Luxembourg) (31). C'est la méthode de ce dernier que nous décrirons.

Les GAG renferment divers constituants, acides hexuroniques (à l'exception du kératan sulfate), hexosamine et sulfohexosamine (uniquement pour l'héparan sulfate) et galactose pour le kératan sulfate. Ces différents éléments sont dosables après hydrolyse des GAG.

Les acides hexuroniques totaux sont dosés par la réaction au carbazol en présence de borate de soude et de sulfonate d'ammonium.

Le dermatan sulfate se caractérise par la présence exclusive d'acide iduronique, ce dernier donne une réaction plus intense avec le réactif à la naphtorésorcine : on obtient ainsi un rapport carbazol/naphtorésorcine plus bas.

L'héparan sulfate est dosé par la réaction que donne les sulfo-hexosamines hydrolysés par l'acide nitreux après 80° à la température ambiante.

La chromatographie sur colonne Dowex 1 2 Cl- (colonne de 10.110 mm), les GAG sont élués dans des solutions en concentration croissante de NaCl. Sur chacune de ces fractions on dose les acides hexuroniques, les sulfohexosamines, l'acide iduronique et le galactose.

Nécessité de dosage sur les urines de 24 heures.

3. ETUDE QUALITATIVE.

L'identification des GAG est obtenue en chromatographie sur couche mince de cellulose en éluant successivement avec une série de solvants composés d'acétate de calcium et d'éthanol. Révélation par le Bleu de Toluidine des différents GAG.

Un screening test a été mis au point (32) par HUMBEL : l'avantage de cette méthodologie est l'identification des GAG avec des prélèvements urinaires faibles, 10 ml pour le screening, 50 ml pour la chromatographie sur colonne. Les résultats sont rapidement obtenus.

4. RESULTATS NORMAUX.

Expression des résultats en milligrammes par gramme de créatinine

- Acides uroniques : - carbazol : $7,9 \pm 3,2$
 - naphtorésorcine : $1,6 \pm 0,8$
 - rapport C/N : $5,8 \pm 2,4$
- N-sulfohexosamines : $1,5 \pm 1,2$
- Galactose : $1,0 \pm 0,9$
- Etude enzymatique : chondroïtine-4-sulfate et chondroïtine-6-sulfate en quantité équivalente.

IV - ETUDE DES GAG DANS LES FIBROBLASTES.

1. LA METACHROMASIE. (30)

Les troubles métaboliques résultant des défauts enzymatiques peuvent être mis en évidence grâce à la coloration au Bleu de Toluidine qui dans les fibroblastes des sujets malades montre la présence de granulations métachromatiques. La métachromasie est un caractère commun à ces maladies.

Pourtant elle n'est pas spécifique, car elle est retrouvée dans la mucoviscidose, le syndrome de Chédiak Higashi, le pseudoxanthome élastique, l'idiotie amaurotique juvénile et aussi dans les cellules normales où sa fréquence augmente lorsque celles-ci sont sénescences.

Ainsi l'étude de la métachromasie passe-t-elle au second plan.

2. LE SULFATE 35 MARQUE.

L'adjonction aux cultures des fibroblastes de sulfate marqué et sa disparition montre qu'il s'incorpore dans les cultures cellulaires. Chez un sujet normal, l'incorporation est lente et lors de la dégradation des MPS il y a une diminution rapide de l'activité témoin.

En cas de mucopolysaccharidose l'incorporation est rapide mais la dégradation est lente comme en témoigne la radioactivité dont la diminution est progressive.

Cette étude n'a pas été pratiquée chez nos malades.

3. ETUDE QUALITATIVE DES GAG EN CULTURE.

Il apparaît actuellement délicat de vouloir reconnaître la type de mucopolysaccharidose en fonction du profil d'élution. C'est la raison pour laquelle nous n'avons pas retenu l'observation de DANES (9).

V - ETUDE ENZYMATIQUE - DOSAGE.

1. LA BETAGLUCURONIDASE.

a. Principe. Technique modifiée d'après la technique de GEHLER (22).

Hydrolyse du 4 méthylumbelliféryl-beta-d-glucuronide en milieu tamponné à pH 3,6 et à 37°.

Arrêt de la réaction enzymatique par addition de tampon carbonate bicarbonate à pH 10,7 et qui active la fluorescence de la méthylumbelliférone libérée.

Mesure de la fluorescence de la méthylumbelliférone libérée par rapport à un étalon de méthylumbelliférone.

b. Méthode.

On prépare une solution de 1 mM de substrat dans le tampon acétate à 0,1 M à pH 3,6 et on fait incubé pendant un temps déterminé (30 minutes), 100 microlitres de substrat dans le tampon avec 10 microlitres d'échantillon.

On arrête la réaction par 1,5 ou 3 ml de tampon à pH 10,7 et on lit la fluorescence libérée (longueur d'onde d'émission 448 nm, longueur d'onde d'excitation 360 nm) comparativement à une gamme étalon de méthylumbelliférone.

c. Matériel.

- SERUM.

Un microtube sec immédiatement centrifugé, transporté dans la glace, le sérum récupéré est soit utilisé immédiatement soit congelé immédiatement à - 80°.

- LEUCOCYTES.

Provenant de 5 à 8 cc de sang veineux recueilli sur anticoagulant, ils sont isolés par décantation à l'aide d'une solution contenant 5 % de polyvinyl pyrrolidone et 2,5 % de citrate de sodium. Les globules rouges restants sont lysés par choc hypotonique à froid : le sédiment leucocytaire final est mis en suspension dans 200 à 500 microlitres de sérum physiologique et soumis aux ultrasons (2 fois 10 secondes).

Conservation dans la glace si utilisation rapide ou congélation.

- FIBROBLASTES CUTANES.

Prélèvement de peau sur la face interne de l'avant bras après désinfection locale, sans anesthésie.

Mise en culture de ce petit fragment cutané; dans un délai de 24 à 36 heures le prélèvement est transporté dans du sérum physiologique à la température ambiante.

La culture est faite en atmosphère humide contenant 5 % de gaz carbonique. Le milieu de culture est du milieu HAM-F10 enrichi de 15 % de sérum de veau foetal et supplémenté en pénicilline, streptomycine et fungizone. Les fibroblastes sont récoltés par trypsinisation, 10 jours au moins après la quatrième subculture ou une subculture ultérieure. Les fibroblastes sont lavés 2 à 3 fois dans du sérum physiologique puis traités comme les leucocytes.

L'ensemble demande 6 semaines à 2 mois.

- LE LIQUIDE AMNIOTIQUE.

. Les cellules amniotiques

Elles sont obtenues par amniocentèse à la 16ème semaine d'aménorrhée. Le liquide est centrifugé à faible vitesse, on récupère le liquide amniotique et le culot cellulaire.

Les conditions de cultures sont les mêmes que pour les fibroblastes cutanés, la seule différence est l'enrichissement plus important en sérum de veau foetal (20 % contre 15 %), les conditions de culture sont plus strictes, les cellules sont étudiées dès le stade de subculture primaire du fait des délais de réponse.

On utilise une technique miniaturisée pour les cellules amniotiques (10 microlitres de substrat dans le tampon, 1 microlitre d'échantillon, on incube sous huile et on arrête la réaction par 200 microlitres de tampon à pH 10,7).

. Le surnageant.

Il est obtenu après centrifugation du liquide amniotique.

2. DOSAGE D'AUTRES ACTIVITES ENZYMATIQUES.

L'activité est déterminée selon des méthodes particulières à chaque enzyme. Une autre activité enzymatique est nécessaire comme témoin de la bonne viabilité cellulaire (pour les cellules).

3. EXPRESSION DES RESULTATS.

- Pour les cellules en cultures, la détermination de l'activité est effectuée parallèlement sur des cellules de référence traitées dans les mêmes conditions. Les protéines sont dosées selon la méthode de LOWRY et coll. (40).

- L'unité actuelle d'activité enzymatique est le katal qui correspond à une mole de substrat hydrolysée par seconde.

- Jusqu'à présent les résultats étaient rendus :

- . soit en milliunités par millilitre
- . soit en milliunités par milligramme de protéine

Une milliunité correspond à la quantité d'enzyme qui hydrolyse une nanomole de substrat par minute dans les conditions expérimentales.

- Le mode est la valeur la plus fréquente.

B - LES OBSERVATIONS PERSONNELLES

I - PREMIERE OBSERVATION : MALIKA (Obs. A)

1. HISTOIRE CLINIQUE.

Malika est née le 16 juin 1975, elle est la quatrième enfant de parents jeunes, en bonne santé, cousins germains.

La grossesse s'est déroulée sans histoire particulière, l'accouchement sans problèmes malgré une présentation du siège, le cri est signalé retardé, pourtant le coefficient d'Apgar est à 10 à 5 minutes. L'enfant pèse à terme 3,850 kg et mesure 49 cm, le périmètre crânien est à 38 cm.

Elle a été hospitalisée au cinquième jour de vie dans le service de pédiatrie du Puy pour :

- pieds bots varus équins bilatéraux,
- faciès grossier, aspect oedématisé des extrémités,
- on note l'absence d'hépatosplénomégalie et de crise génitale,
- on découvre l'aspect radiologique particulier étiqueté "épiphyses pointillées" touchant la colonne cervicale (figure 5, page 26) et les pieds.

L'ensemble fait évoquer le diagnostic de maladie de Landau.

Le problème orthopédique nécessite la mutation dans le service du Docteur CHAVRIER à l'âge de 23 jours : Malika sera traitée par des plâtres et des manipulations. (Figure 1, page 25 : aspect du visage de profil à 1 mois).

A 2 mois le développement staturopondéral est correct, la taille est à 59 cm soit + 2 DS, le poids à 5,150 kg soit normal, le périmètre crânien à 40 cm. Le développement psychomoteur est jugé satisfaisant, on discute sur l'existence d'une discrète hypotonie.

Le syndrome dysmorphique est certain : (figure 2, page 24)

- faciès aux traits grossiers caractérisé par un front saillant, un hypertélorisme (25 mm), un épicanthus peu marqué, les paupières supérieures sont bouffies ; la racine du nez est aplatie et le nez est large avec antéversion narinaire, le philtrum est haut (15 mm), macroglossie relative sans anomalie du palais, les oreilles sont un peu basses implantées et l'hélix à droite est mal ourlé.
- le thorax court s'évase à sa base ; diastasis des droits, pas de hernie, enfin le foie est perçu à 1 cm sous le rebord costal, la rate n'est pas accrochée.
- les extrémités sont courtes et boudinées, on ne revient pas sur les anomalies des pieds, le résultat des premières thérapeutiques est encourageant et améliore considérablement le côté droit.

Il n'y a pas d'opacités cornéennes à la lampe à fente. Le fond d'oeil est normal.

A 18 mois l'enfant est réhospitalisée : la taille à 75 cm est à - 1,5 DS pour un poids normal à 11,220 kg, le périmètre crânien se situe à 50cm + 2,5 DS, et traduit une macrocéphalie.



FIG. 1

1 mois

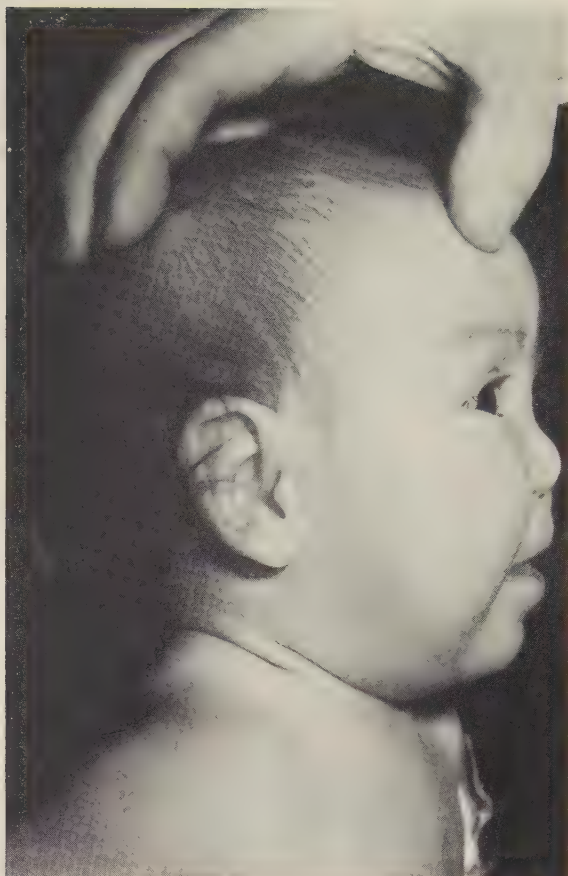


FIG. 2

2 mois 1/2



FIG. 3

18 mois



FIG. 4

18 mois

Le syndrome dysmorphique est alors important (figures 3 et 4, page 24) marqué par :

- aplatissement de la face traduisant une hypoplasie du massif facial sans anomalies des os propres du nez et avec une bonne perméabilité nasale. Le nez est large, l'hypertélorisme persiste. La lèvre supérieure est proéminente, les oreilles restent mal ourlées.
- le thorax est évasé à sa base avec rétrécissement sous-mammaire. Tendance nette à la cyphose dorso-lombaire. Le foie et la rate ne sont pas perçus.
- les mains restent courtes et trapues avec des doigts boudinés. Au niveau des pieds les problèmes orthopédiques sont importants : le résultat à gauche est mauvais et nécessite une intervention chirurgicale (grande libération interne et reposition astragaliennne). Ces problèmes expliquent en partie l'absence de marche à 18 mois ; le développement psychique est trouvé normal.

On signale la fréquence des épisodes infectieux de la sphère ORL avec une fois un épisode de pneumopathie infectieuse avec leucocytose et élévation des polynucléaires neutrophiles.

Donc sur le plan clinique les points marquants sont la dysmorphie faciale et les pieds bots varus équins.

2. ETUDE RADIOLOGIQUE

Les bilans ont été pratiqués de façon complète à l'âge de 2 mois et de 18 mois.

a. Le crâne

Verticalisation de l'étage antérieur, voûte crânienne normale, selle turcique normale. Les os propres du nez sont bien visibles.

b. Le thorax

L'aspect des côtes est particulier avec un élargissement de l'extrémité antérieure contrastant avec un rétrécissement de l'arc postérieur.

Le parenchyme pulmonaire et la silhouette cardiaque sont normaux, le thymus est visible à 2 mois.

c. La colonne vertébrale

La colonne cervicale : l'apophyse odontoïde est discrètement hypoplasique et ne dépasse pas l'arche de l'atlas. Au huitième jour de vie on trouve des calcifications ponctuelles au niveau des corps vertébraux, elles s'étendent de C3 à C7 : on en compte environ une dizaine. Ces calcifications ne seront plus jamais retrouvées. (Figure 5, page 26).

A 2 mois comme à 18 mois on retient une hypoplasie marquée du corps de C3, qui accentue un aspect de luxation de C1-C2 en avant de C3, aspect d'ailleurs physiologique (figure 6, page 26).

Les dernières vertèbres dorsales ont un aspect biconvexe avec brièveté du mur postérieur, (D10-D11).

L'aspect en éperon de L3 ébauché à 2 mois est indiscutablement pathologique plus tard. L4 et L5 subissent une moindre déformation en éperon (figures 7 et 8, page 26).



FIG. 5

CALCIFICATIONS VERTEBRALES

15è jours



FIG. 6

HYPOPLASIE DU CORPS DE C³

18 mois



FIG. 7

HYPOPLASIE DU CADRAN ANTERO-
SUPERIEUR DE L³

2 mois

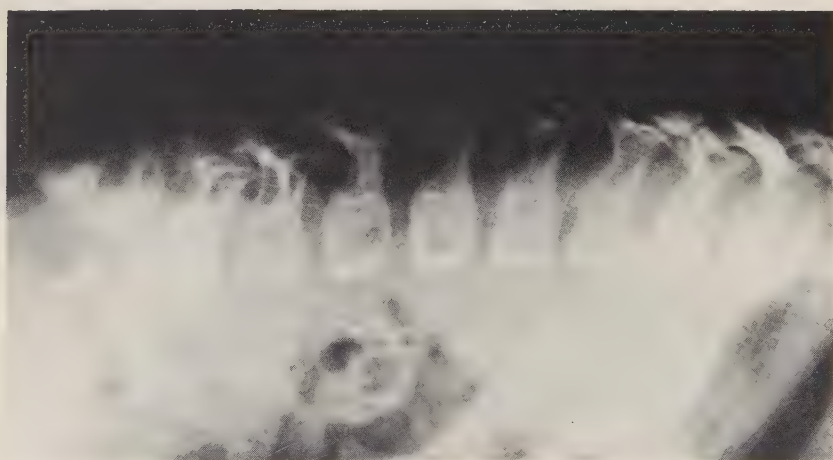


FIG 8.

COLONNE LOMBAIRE à

18 mois

COLONNE VERTEBRALE

OBS. 4 : enfant MALIKA

- profil électrophorétique : présence d'une bande de chondroïtine 4 et 6 sulfate et d'une bande d'héparan sulfate.

Etude faite à 18 mois (Docteur HUMBEL)

- MPS totaux (acides hexuroniques totaux) 18,4 mg/g de créatinine
- chromatographie : chondroïtine 6 sulfate ++ (51,6 %)
chondroïtine 4 sulfate + (47,3 %)

b. Recherche des cellules de surcharge

La recherche a été faite à 2 mois et à 18 mois sur des lames de sang périphérique et sur sang médullaire : il n'a jamais été vu de cellules évocatrices.

c. Mise en évidence du déficit enzymatique (Tableau V, page 31)

- Dans les leucocytes.
A l'âge de 1 mois 5 jours, dosage de huit hydrolases acides comme le montre le tableau IV, page 30.
Très nette diminution de l'activité de la beta-glucuronidase à 2,2 % de l'activité moyenne de 18 témoins.
L'activité de la betagalactosidase est à la limite inférieure de la normale pouvant correspondre à un taux d'enfant jeune. On doit aussi savoir que la présence d'un excès de GAG gêne l'activité de cette enzyme.
Les autres activités des hydrolases acides sont normales.
- Dans le sérum (voir le tableau V, page 31)
L'activité de la betaglucuronidase par rapport au témoin du jour varie sur deux dosages de 3,8 à 2,2 % de l'activité normale.
- Dans les fibroblastes (5 mois) (voir le tableau V, page 31).
L'essai a été fait en subculture 4, après 13 jours de subculture : l'activité est de 4 % par rapport à une activité témoin. Le mode est à 63 ± 30 mais les témoins du jour sont plus hauts, à 77.

	activité en microkatal/kilo de protéine	
	Contrôle :	MALADE
	mode $\pm$ 1 DS.	
	N = nombre de témoins	
BETA - GALACTOSIDASE	48,3 $\pm$ 10 N = 129	31,2
ALPHA - MANNOSIDASE	50 $\pm$ 26 N = 54	56,7
ALPHA - L - FUCOSIDASE	8,2 $\pm$ 2,5 N = 95	13
HEXOSAMINIDASES TOTALES	175 $\pm$ 41,7 N = 58	137
ARYL SULFATASE - A	14,2 $\pm$ 5 N = 102	17,5
ALPHA - D - GALACTOSIDASE	9 $\pm$ 2,7 N = 86	10,5
BETA - GLUCOSIDASE	pH 4 0,64 $\pm$ 0,17 N = 82	0,61
	pH 5,3 0,85 $\pm$ 0,18	1,0

TABLEAU IV

... Principales enzymes dosées dans les leucocytes - obs. A

	LEUCOCYTES microkatal / kilo de protéine	SERUM nanokatal / litre	FIBROBLASTES microkatal / kilo de protéine
CONTROLE :			
MODE $\pm$ 1 DS			
NOMBRE de TEMOINS	95 $\pm$ 33 180	43 $\pm$ 22 26	63 $\pm$ 30 125
VALEURS EXTREMES	50 - 200	13 - 120	30 - 78
MALIKA			
essai 1	1,8	0,5	2,5
essai 2	2,1	0,8	2,2
TOURIA	2,5	0,4	2
PERE	60	7	42
MERE	68	7	53
ABDALLAH	65	7	
MINA	63	8,2	
NERA	45	8	

TABLEAU V
ACTIVITE ENZYMATIQUE DE LA BETA-GLUCURONIDASE - OBSERVATIONS PERSONNELLES.

II - DEUXIEME OBSERVATION : TOURIA (Obs. B)

1. HISTOIRE CLINIQUE

Touria est la troisième enfant du même couple née le 6.8.71 au Maroc, ceci explique en partie le peu de renseignements sur les circonstances néonatales et l'absence de poids, et taille et de périmètre crânien connus à la naissance.

A l'âge de 5 mois 1/2 elle a été hospitalisée pour bronchite asthmatoïde, la radiographie du thorax est normale. Le développement psychomoteur est excellent de même que le développement staturopondéral : les mensurations sont les suivantes : poids 6,600 kg, taille 65 cm, périmètre crânien 44 cm.

Elle présente par la suite quelques épisodes d'infections rhinopharyngées et fait une rougeole sans complications.

C'est à l'âge de 4 ans 1 mois qu'elle est vue à la consultation à la suite de l'hospitalisation de sa soeur, elle présente alors une dysmorphie faciale qui sera retrouvée identique 1 an plus tard (figure 11, page 33) :

- le crâne est étroit avec resserrement temporal, bombement frontal médian, grosses joues, racine du nez aplatie, nez large avec anteversion nasale, lèvre supérieure épaisse proéminente, philtrum haut (20 mm).
- le thorax est sensiblement normal évasé à sa base.
- l'abdomen est proéminent avec diastase discrète des droites, pas d'hépatosplénomégalie.
- on ne trouve pas d'opacités cornéennes et le fond d'oeil est normal.
- Le développement psychomoteur est normal, de même que les mensurations et le poids (T : 96 cm, - 1 DS ; P : 15,500 kg, normal ; PC : 50,5 cm).

Ainsi en dehors des épisodes infectieux fréquents on ne retient qu'une dysmorphie faciale, en sachant qu'en l'absence du contexte particulier celle-ci n'avait pas particulièrement retenu l'attention.

2. ETUDE RADIOLOGIQUE

L'enfant a eu deux bilans radiologiques complets à l'âge de 4 ans et de 6 ans 4 mois.

a. Le crâne (figure 12, page 33)

Aspect en J de la selle turcique par allongement de la portion antérieure, aspect retrouvé lors des deux bilans. La base du crâne est normale, la voûte est d'épaisseur normale.

b. Le thorax

L'aspect des côtes avec rétrécissement de l'arc postérieur des 4 dernières côtes est assez net pour être retenu. Il n'y a pas de modification de l'arc antérieur. L'ombre cardiaque est normale de même que le parenchyme pulmonaire.

c. La colonne

Discrète hypoplasie de l'apophyse odontoïde, pas de modification des corps vertébraux cervicaux.

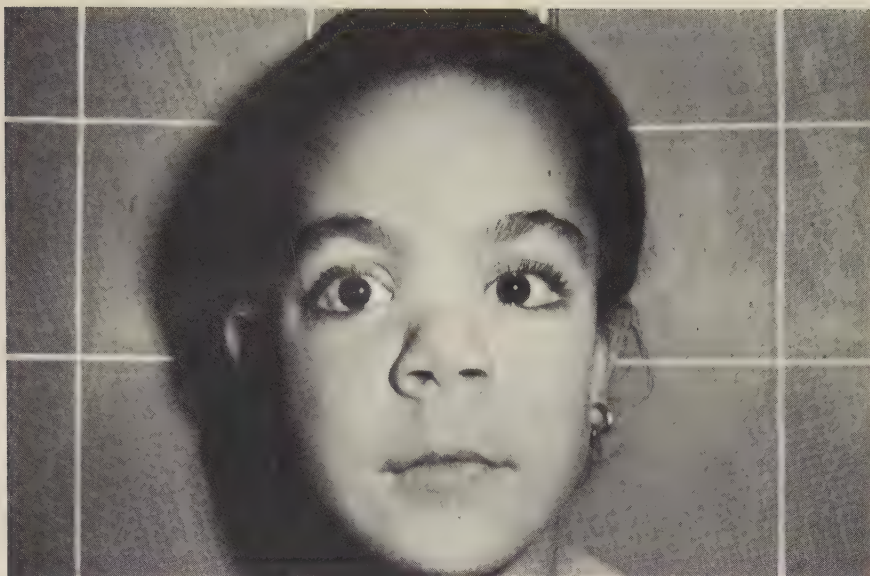


FIG. 11



FIG. 12

ASPECT EN J de la selle TURCIQUE

OBS B : enfant SONIA

La colonne dorsale est le siège de modifications notées aux deux bi-lans et se situant sur D10 D9 D8 et à un moindre degré sur D7 : aspect ovoïde de ces corps sur les radiographies de face et de profil.

Sur la colonne lombaire on retient une irrégularité des plateaux vertébraux de L4, L3, L2 et une concavité du bord postérieur de ces corps.

d. Le bassin

Frappe par l'aspect rond des ailes iliaques avec débord franc des ilions. Les toits des cotyles sont horizontaux.

e. Les mains

On retient à l'âge de 4 ans une brièveté du cubitus.

D'une façon générale il n'y a pas d'aspect anormal de la trame osseuse ni de modification du modelage métaphysaire.

On retient donc au terme de cette étude :

- l'aspect en J de la selle turcique,
- les modifications des corps vertébraux d'aspect ovoïde,
- le débord des ailes iliaques.

3. ETUDE BIOLOGIQUE

a. Les GAG urinaires

Etude faite le 13.8.75, technique du Docteur MANUEL.

MPS : 300 à 400 mg/l
 créatinine : 990 mg/l
 rapport : 0,303 à 0,404

Forte élimination des MPS urinaires

La chromatographie montre qu'il s'agit de chondroïtine 4 et 6 sulfate.

b. Recherche des cellules de surcharge.

Il n'a pas été vu dans le sang ou la moelle osseuse de cellules évocatrices.

c. Mise en évidence du déficit enzymatique

Le tableau V, page 31 résume les études qui ont été faites.

L'activité de la betaglucuronidase est très abaissée dans le sérum, les leucocytes et les fibroblastes.

III - ETUDE DE LA FAMILLE

1. CLINIQUE.

Les parents de Malika et Touria sont cousins germains (arbre généalogique, figure 5, page 36), sans particularité physique notable. Ils sont tous les deux d'origine marocaine. Ils ont trois autres enfants, les plus âgés ont un examen clinique normal, le dernier enfant est une fille qui a bénéficié d'un diagnostic antenatal. En effet une amniocentèse a été pratiquée à la seizième semaine d'aménorrhée. Un contrôle a été fait sur l'enfant au vingtième jour de vie, cette fille est cliniquement normale.

2. ETUDE BIOLOGIQUE

a. Les GAG urinaires

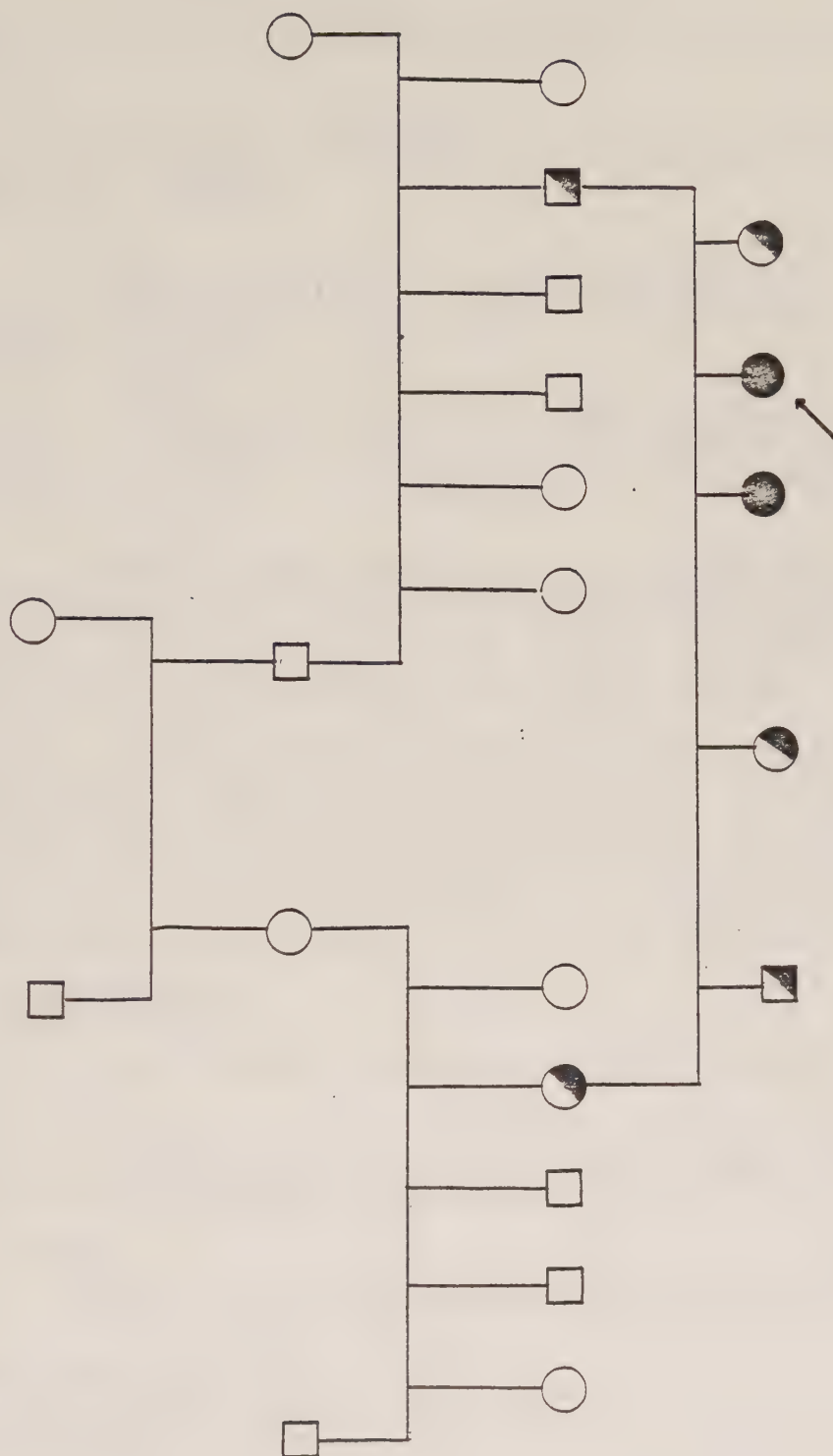
L'excrétion des GAG urinaires est normale quantitativement, il n'a pas été pratiqué de chromatographie.

b. Etude enzymatique de la betaglucuronidase.

Elle a été pratiquée sur les leucocytes et les fibroblastes. Les résultats figurent sur le tableau V, page 31. Les taux sont intermédiaires pour tous les membres de la famille.

Les mêmes résultats sont obtenus en ce qui concerne le sérum.

L'étude de l'activité de l'enzyme dans les fibroblastes est d'interprétation plus délicate : il existe une grande variabilité de l'activité qui est sensible à la confluence cellulaire.



ARBRE GENEALOGIQUE DE LA FAMILLE (Observations personnelles.)

FIGURE 5

C - LES OBSERVATIONS DE LA LITTERATURE

La nécessité d'exiger des critères biologiques stricts n'a permis de retenir que 4 observations dont les publications s'échelonnent entre 1973 et 1975.

Le terme de mucopolysaccharidose de type VII a été attribué à tort à une observation décrite par DYGGVE (18, 59). La description se rapproche de la maladie de Morquio.

I - OBSERVATION I décrite par SLY (55)

1. HISTOIRE CLINIQUE.

Premier enfant de parents en bonne santé non consanguins, pesant 3,650 kg à la naissance. Il est hospitalisé à l'âge de 7 semaines pour des pieds métatarsus adductus et une dysmorphie faciale. Les mensurations sont alors au 25^e percentile.

Hypertélorisme, petit épicanthus, racine du nez aplatie, narines anteversées, maxillaire inférieur proéminent, oreilles larges sont les principales anomalies notées. L'abdomen est distendu par un gros foie (+ 4 cm sous le rebord costal droit), rate à 3 cm, diastasis des droites, hernies. Cyphose dorso-lombaire. Mains et pieds élargis, doigts boudinés.

L'évolution dans les trente mois suivants est marquée par une récupération puis une cassure de la courbe de poids et de taille avec macrocéphalie. Le développement moteur est normal jusqu'à 24 mois puis suspicion d'un retard à 30 mois. Les épisodes infectieux sont fréquents. Gros foie et grosse rate persistent. Il apparaît à 24 mois un souffle systolique 2/6, le coeur est de volume normal, l'électrocardiogramme est normal. La cyphose s'accroît avec aspect de tronc court et déformation thoracique en poitrine de pigeon.

2. LES RADIOGRAPHIES

Les bilans ont été pratiqués à 2 mois, 5 mois, 1 an et 2 ans.

a. Le crâne

A deux ans déformation de la selle turcique, crâniosynostose prématurée des sutures lambdoïdes et sagittales.

b. Le thorax

Elargissement antéro-postérieur, côtes élargies, omoplates arrondies.

c. La colonne vertébrale

Apophyse odontoïde hypoplasique, sous-développement des portions antérosupérieures de D10, D11 et de L1 à L4.

A 24 mois courbures cypho-scoliotiques.

d. Le bassin

Os iliaques petits.

e. Les membres

Radius et cubitus sont élargis.

Maturation exagérée des épiphyses fémorales supérieures présentes à 2 mois.

A la naissance varus bilatéral des pieds.

3. ETUDE BIOLOGIQUE.

a. Les GAG urinaires

Elévation remarquable à 7 semaines et à 24 mois.

La chromatographie montre de l'héparan sulfate et du dermatan sulfate.

b. Recherche des cellules de surcharge.

Sang périphérique : granulations métachromatiques dans les granulocytes

Sans médullaire : granulations dans les granulocytes et leurs précurseurs.

c. Diagnostic du déficit enzymatique.

L'activité de la betaglucuronidase est très diminuée dans les leucocytes et le sérum et nulle dans les fibroblastes en culture. L'activité de la betagalactosidase est diminuée de 50 % dans les fibroblastes.

Donc tableau de maladie de surcharge avec petite taille, hépatosplénomégalie, pas d'opacités cornéennes, anomalies squelettiques discrètes, excrétion urinaire de DS et HS, déficit de l'activité de la betaglucuronidase.

II - OBSERVATION II décrite par GEHLER (22)

1. HISTOIRE CLINIQUE

Cette fille est la troisième enfant de parents non consanguins, elle est née à terme, pesait 3,200 kg, mesurait 52 cm. Elle est traitée pour une luxation de hanches par attelle de Paulik, avec succès.

Jusqu'à sa première hospitalisation à l'âge de 12 mois pour bilan d'un retard psycho-moteur, elle ne présente que des infections respiratoires récidivantes sans gravité, les traits sont grossiers, on trouve une hépatosplénomégalie et un spot test positif pour les mucopolysaccharidoses.

A 18 mois : - retard psychomoteur, s'assoit mais ne tient pas debout,
 - retard statural modéré (T = 77 cm), poids 8,400 kg,
 - dysmorphie faciale : hypertélorisme discret, base du nez large et aplatie
 - hépatomégalie à 4 cm, rate à 3 cm, hernies,
 - cyphose dorsolombaire
 - thorax à base large dominé par un cou court.

2. LES RADIOGRAPHIES

Peu d'éléments : élongation de la selle turcique et discrète hypoplasie des régions inférieures des ischions sont à retenir.

3. ETUDE BIOLOGIQUE.

a. Les GAG urinaires.

Excrétion totale discrètement augmentée : 42 mg/g de créatinine, (normale de 7,5 à 27,7 mg).

Présence de : - D.S. en faible quantité
- GAG altérés.

b. Recherche des cellules de surcharge.

Coloration de May Grunwald : dans les granulocytes du sang périphérique présence de granules épais et étroits.

Dans le foie, (ponction à l'aiguille) les hépatocytes sont vacuolés ; en M.E. les vacuoles intracytoplasmiques sont entourées d'une membrane, elles contiennent un matériel identifié à du D.S.

c. Diagnostic du déficit enzymatique.

L'activité de la betaglucuronidase est indétectable dans les leucocytes et est à un taux très faible dans le sérum et les fibroblastes.

L'adjonction de SO4 35 au milieu de culture des fibroblastes montre l'accumulation de MPS chez le malade et la correction par l'adjonction de betaglucuronidase d'origine bovine.

Donc tableau de maladie de surcharge avec dysmorphie faciale, retard psychomoteur modéré, hépatosplénomégalie, pas d'opacité cornéenne, excrétion urinaire de GAG et déficit prouvé de l'activité de la betaglucuronidase.

III - OBSERVATION III décrite par BEAUDET (3)

1. HISTOIRE CLINIQUE.

Deuxième enfant de parents non consanguins de race blanche ; la grossesse a été compliquée par des nausées et des vomissements ayant nécessité des thérapeutiques non précisées.

Hospitalisation à la naissance pour hépatosplénomégalie, oedèmes périphériques et pieds varus équins. Poids : 3,450 kg. La période néonatale est troublée par un ictère. L'enfant développe une diarrhée et une ascite.

A 7 mois on note une hypertrophie gingivale et des opacités cornéennes. A 2 ans 1/2, dysmorphie crânio-faciale, macrocéphalie, hypertélorisme et racine du nez aplatie sont à retenir. Le retard staturopondéral est important (T = 73 cm) avec P.C. à 52 cm. Le QI est à 12 à 16 semaines.

L'enfant décède dans un état grabataire et surinfecté.

2. ASPECT RADIOLOGIQUE.

Déformation en coin des vertèbres ; élargissement costal.

3. ETUDE BIOLOGIQUE.

a. GAG : Elimination augmentée des GAG (14,7 à 8,6 mg par 24 heures), avec présence de D.S. et H.S.

b. Cellules de surcharge

Sur sang médullaire anomalie de Alder Reilly dans les granulocytes.
Biopsie hépatique : présence de cellules géantes remplies de vacuoles claires.

c. Diagnostic du déficit enzymatique.

L'activité de la betaglucuronidase est effondrée dans les leucocytes, le sérum et les fibroblastes.

L'étude avec le SO₄ 35 montre que l'incorporation se normalise sous betaglucuronidase d'origine bovine.

Au total maladie de surcharge avec retard staturopondéral et psychomoteur à révélation précoce aboutissant au décès dans un état grabataire, avec excrétion de H.S. et D.S. et déficit de l'activité en betaglucuronidase.

IV - OBSERVATION IV décrite par BEAUDET (3)

1. HISTOIRE CLINIQUE.

Premier garçon de parents non consanguins vu à l'âge de 13 ans, il est opéré d'une coarctation aortique.

C'est à 8 ans qu'a été découverte cette anomalie. Le développement staturopondéral et psychomoteur est normal, la tension avant l'intervention est à 21/4 aux membres supérieurs et 8/0 aux membres inférieurs. On ne sait pas si les fémorales étaient percues à la naissance.

L'analyse histologique de la pièce de résection montre une dysplasie fibromusculaire et des cellules vacuolées surchargées en MPS.

2. ETUDE BIOLOGIQUE

Excrétion de GAG urinaires : 49,1 mg (normal jusqu'à 16) avec présence de D.S. et H.S.

Il y a des cellules de surcharge dans le sang périphérique.

L'activité de la betaglucuronidase est effondrée dans les leucocytes, le sérum et les fibroblastes.

Donc découverte fortuite d'une mucopolysaccharidose de type VII, chez un garçon porteur d'une coarctation aortique, (cellules de surcharge sur la pièce d'intervention), excrétion augmentée des GAG urinaires (D.S., H.S.) et déficit de l'activité enzymatique de la betaglucuronidase.

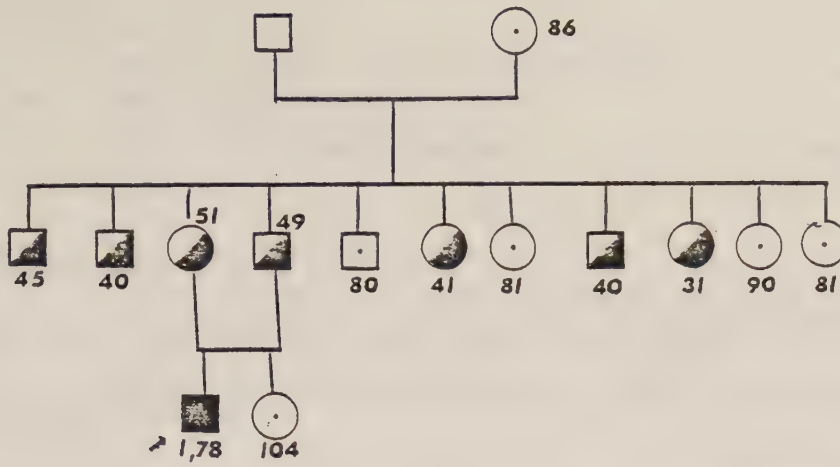
V - ETUDE FAMILIALE DES OBSERVATIONS DE LA LITTERATURE.

Se reporter à la figure 6, page 41.

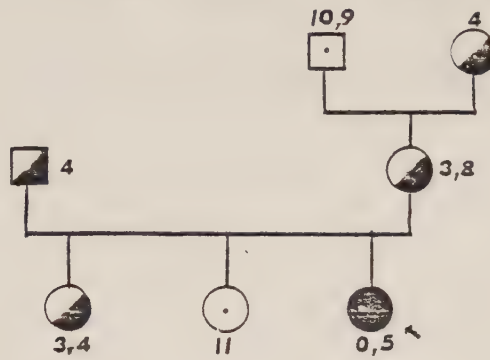
Observation I.

Clinique : parents de race noire, non consanguins, la garçon malade est le premier enfant d'une fratrie de deux. La figure 6 montre l'arbre généalogique.

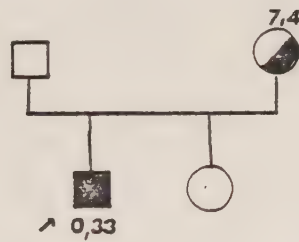
Etude biologique : sur la figure 6 les chiffres donnent l'activité de la betaglucuronidase dans les leucocytes.



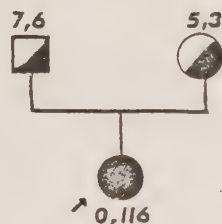
OBSERVATION I



OBSERVATION II



OBSERVATION III



OBSERVATION IV

ARBRES GENEALOGIQUES DES OBSERVATIONS DE LA LITTERATURE

(Les chiffres indiquent l'activité de la beta-glucuronidase dans les leucocytes -obs. I-, et dans le sérum -obs. II-III-IV-)

FIGURE 6

Observation II.

Rien à signaler sur le plan clinique, la fille malade est la troisième enfant d'une fratrie de trois.

Etude biologique faite dans le sérum et les leucocytes comme le montre la figure 6.

Observation III.

Le garçon malade est le premier enfant de parents non consanguins, la soeur est normale cliniquement comme ses parents.

L'étude enzymatique a été faite sur le sérum, les leucocytes et les fibroblastes (figure 6).

Observation IV.

Le garçon est le premier et seul enfant de parents en bonne santé non consanguins.

L'étude biologique est rapportée dans la figure 6.

CHAPITRE III

- A - Etude synthétique
 - B - Discussion de quelques problèmes de diagnostic
 - C - Etude génétique
 - D - Possibilités thérapeutiques.
-

A - ESSAI D'ETUDE SYNTHETIQUE

I - LES SIGNES CLINIQUES.

1. EVOLUTION DE LA GROSSESSE.

La grossesse se déroule le plus souvent sans incidents. Une anomalie non spécifique est toutefois signalée : néphropathie oedémateuse et albuminurique avec hypertension dans le dernier trimestre (obs. III)

Les enfants sont nés à terme et avec un poids de naissance normal.

2. EXAMEN CLINIQUE.

- La dysmorphie crânio-faciale est présente précocément dans deux observations (A-I) et notée par la suite dans 5 observations (A-B-I-II-III). La photographie qui figure dans l'observation n° IV ne permet de retenir qu'un faciès grossier. On doit tenir compte dans l'interprétation de cette dysmorphie du facteur racial ; un noir, deux nord-africains. Les traits sont grossiers la racine du nez est aplatie, un hypertélorisme est retrouvé 4 fois.

Dans nos observations la dysmorphie est marquée mais sans ressemblance avec les autres malades et est donc sans spécificité.

La macrocéphalie est notée à un moment ou à un autre 5 fois sur 6.

- Le thorax souvent déformé est à base élargie avec tendance à la cyphose dorso-lombaire (obs. A-I-II-III) et protrusion sternale (I-II).

- L'abdomen est souvent proéminent avec léger diastasis des droits (obs. A-B-I-II-III).

- Les mains sont larges et les doigts boudinés (obs. A-I)

- Parmi les signes précoces les problèmes orthopédiques occupent une grande place : pieds bots varus équins bilatéraux (A-III), métatarsus adductus (I), luxation des hanches (obs. III).

- Le développement statural est :

un peu supérieur à la normale 2 fois

normal 2 fois

un retard modéré est noté 2 fois et sévère dans une observation.

- La surcharge viscérale. L'hépatosplénomégalie franche est signalée 3 fois sur 6 (I-II-III). Elle est présente 2 fois à la naissance et est précocément importante, responsable de la distension abdominale.

- Le développement psychomoteur

est très retardé 1 fois (III)

signalé modéré 2 fois et 3 fois il est normal.

- Les signes pulmonaires et cardiaques.

Fréquence des épisodes d'infection des voies aériennes supérieures, ou des épisodes infectieux pulmonaires (obs. A-B-I-II-IV)

L'observation n° IV est remarquable par l'existence d'une hypertension artérielle avec coarctation aortique qui résume l'essentiel de la symptomatologie.

L'existence d'un souffle systolique non étiqueté est noté une fois.

- L'évolution est mortelle dans l'observation III où tous les signes majeurs sont signalés, l'enfant décède à 2 ans 1/2 dans un état grabataire et surinfecté. Dans les autres observations l'évolution est prolongée sans phénomènes surajoutés.

- Les signes ophtalmologiques

Les opacités cornéennes sont certaines 1 fois, discrètes 1 fois.

II - LES SIGNES RADIOLOGIQUES

L'observation A est originale par l'existence de calcifications en tête d'épingle au niveau du calcanéum et de la colonne cervicale.

Au niveau du crâne

Déformation du dos de la selle turcique (B-I-II)

Hypoplasie de l'odontoïde (A-B-I)

Au niveau du thorax.

Elargissement des extrémités antérieures des côtes (A-I-III).

La colonne vertébrale.

Les déformations des vertèbres sont retrouvées dans les obs. A-B-I-II.

Hypoplasie des corps vertébraux : colonne cervicale (A), colonne dorso-lombaire (A-I-III) avec déformation en éperon.

Le bassin.

Les anomalies sont fréquentes (A-B-I-II), les os iliaques sont décrits comme étant trapus, hypoplasie des ailerons sacrés ou de la région inférieure des ilions.

Les membres.

Evasement des régions métaphysaires (A-B). Epiphyses morcellées dysgénétiques (A-I).

III - LES SIGNES HEMATOLOGIQUES.

Dans le sang périphérique après coloration au Bleu de Toluidine ou au May Grunwald la recherche de granulations métachromatiques est positive 3 fois (I-III-IV).

Dans la moëlle osseuse, les mêmes éléments sont retrouvés 2 fois sur 6.

IV - LES GAG URINAIRES.

Les méthodes de dosage différentes dans les observations rendent difficile une interprétation précise.

L'étude quantitative montre une augmentation de l'excrétion 6 fois sur 6.

L'étude qualitative montre la présence :

3 fois de D.S. et H.S.

1 fois de GAG altérés et D.S.

2 fois de chondroïtine 4 et 6 sulfate (A-B).

Le Docteur HUMBEL a réétudié les urines de l'observation II et a trouvé des chondroïtines sulfates (résultat non publié).

V - L'ETUDE ENZYMATIQUE.

Le tableau VI, page 47 résume les résultats, chez les malades, des différents dosages portant sur la betaglucuronidase.

L'activité enzymatique est toujours inférieure à 4 % de l'activité témoin.

En conclusion.

Les variations phénotypiques sont importantes : il est délicat sur un nombre de cas aussi faible de vouloir décrire des formes cliniques : on essaie néanmoins de dégager trois tableaux.

Un tableau majeur correspondant à l'observation de BEAUDET (III), avec des signes présents à la naissance, avec signes de surcharge importante, clinique pour l'essentiel ; un retard staturopondéral et psychomoteur et une évolution fatale dans un tableau d'hypotonie et de surinfection.

Des formes intermédiaires avec dysmorphie faciale, signes de surcharge viscérale peu marqués, retard statural modéré et anomalies osseuses à début souvent précoce.

Des formes latentes, de découverte fortuite, comme le prouve notre seconde observation (examen systématique de la fratrie d'un enfant malade) et observation IV.

L'unité de ces tableaux est réalisée par les éléments biologiques suivants :

- augmentation des GAG urinaires de type D.S., H.S., C.H.6S et C.H.4S.
- et de façon primordiale la baisse constante de l'activité de la betaglucuronidase dans le sérum, les leucocytes et les fibroblastes en culture.

	LEUCOCYTES microkatal/kilo de protéine	SERUM nanokatal/litre	FIBROBLASTES microkatal/kilo de protéine
CONTRÔLE -Moyenne -Valeurs extrêmes	156,19 115,35 - 203,37	43,1 9,83 - 83,8	130,6 60,51 - 173,36
OBSERVATION I	.	.	1,15
OBSERVATION III	0,16	0,33	0,23
OBSERVATION IV	0,50	0,116	2,15
CONTRÔLE -Moyenne -Valeurs extrêmes	53,18		49,64 30 - 68,49
OBSERVATION II	0,01	.	0,63
CONTRÔLE Moyenne Valeurs extrêmes	95 50 - 200	43 13 - 120	63 30 - 78
MALIKA	1,8	0,5	2,5
TOURIA	2,5	0,4	2,2

TABEAU VI
ACTIVITE DE LA BETA-GLUCURONIDASE (DANS LES OBSERVATIONS ETUDIEES)

B - DISCUSSION DE QUELQUES PROBLEMES DE DIAGNOSTIC

I - MALADIE DE SURCHARGE A REVELATION NEONATALE.

Dans notre étude deux observations posent le problème d'une maladie de surcharge à révélation précoce, dans les premières semaines de la vie : la discussion porte essentiellement sur 2 types de maladies, la mucopolipidose de type II (35) et la gangliosidose à GM 1 (38).

La maladie de Landing, à début précoce, associe des oedèmes parfois diffus, une dysmorphie faciale, la surcharge hépatosplénique n'existe que dans 50 % des cas, l'évolution sévère se fait en quelques années vers le décès favorisé par l'hypotonie et les complications respiratoires. Cette description rappelle bien l'observation III.

Dans la maladie de type I cell disease (mucopolipidose de type II) l'hypotrophie est marquée de même que la dysmorphie crâniofaciale, l'association à des hernies et des problèmes orthopédiques est évocatrice, ce n'est que plus tard qu'apparaît l'encéphalopathie.

L'aspect radiologique de la maladie de Landing simule notre observation par l'hypoplasie de la partie antérosupérieure des corps vertébraux surtout lombaires ; mais la trabéculatation osseuse est grossière, les corticales sont dédoublées, autant de signes qui s'observent encore dans la mucopolipidose de type II : ici les contours osseux sont mal définis, les diaphyses sont fragiles, l'os a un aspect ostéomalacique.

L'aspect des épiphyses ponctuées a été décrit dans ces deux maladies (35, 39, 6). Il ne s'agit pas ici de la maladie des épiphyses ponctuées tel qu'il a été décrit initialement par CONRADI : on ne retrouve pas dans nos observations les signes associés tels que la micromélie, la cataracte, la dermatose et les anomalies du faciès et du thorax. L'aspect radiologique rappelle les aspects que l'on a décrit dans la première observation, mais il est dans cette entité beaucoup plus diffus, les noyaux d'ossification engloberont peu à peu les calcifications adjacentes (34, 2). Tout au plus peut on discuter leur rôle dans les possibles limitations articulaires. Signalons enfin qu'il n'y a pas de prise de médicaments pendant la grossesse (notamment de type coumariniques).

II - LA FREQUENCE DES PROBLEMES ORTHOPEDIQUES.

Elle est à souligner et doit attirer l'attention dans un contexte particulier et faire pratiquer un bilan radiologique complet et de bonne qualité. Il est probable que l'étude biochimique du cartilage, l'étude de la disposition des chondrocytes et des fibres de collagène aideraient à la compréhension de la pathogénie de ces manifestations. Il a été montré par exemple que dans la maladie de Morquio il existe une surcharge lysosomiale des chondrocytes (60).

Dans notre observation l'existence des épiphyses pointillées au niveau du noyau postérieur du calcanéum peut expliquer en partie les déformations des pieds et aurait du présager de la gravité du problème orthopédique tel qu'il s'est confirmé, impliquant une surveillance plus étroite dans le contexte familial présent.

III - LES EPISODES INFECTIEUX ORL ET BRONCHOPULMONAIRES.

Signalons d'emblée qu'aucune étude particulière de l'immunité n'a été entreprise. Dans la fréquence de ces épisodes intervient le modelage facial particulier comme facteur favorisant.

On sait d'autre part que les GAG sont des constituants du mucus (15) et que les anomalies chimiques de ces GAG peuvent créer une inhibition des mouvements de ces sécrétions de l'espace extra-cellulaire à l'épithélium sécrétoire.

IV - LA DYSMORPHIE CRANIOFACIALE.

Elle existe, sa description serait trop dispersée : on doit retenir qu'elle s'intègre dans le cadre des maladies de surcharge.

V - L'ATTEINTE CARDIOVASCULAIRE.

Elle n'est pas présente pour l'instant dans nos observations personnelles mais signalée dans l'observation I sous forme d'un souffle non identifié et elle est remarquable dans l'observation IV car c'est la coarctation aortique qui fait découvrir la maladie.

L'étude des manifestations cardiovasculaires a été bien entreprise dans le cadre de ces maladies (1, 45). On doit retenir que l'atteinte cardiaque est surtout valvulaire acquise par rétraction fibreuse des valves et que l'atteinte vasculaire touche les vaisseaux de tout calibre. Il existe histologiquement un épaississement de l'intima par des cellules de surcharge, les fibres de collagène sont fragmentées et tuméfiées. Au niveau des gros vaisseaux se développe précocement un athérome. Les atteintes cardiovasculaires sont plus fréquentes si il y a élimination de dermatan sulfate.

La possibilité d'une atteinte cardiovasculaire et de l'athérome précoce peut faire discuter de règles d'hygiène alimentaire et corporelle adaptées et d'application précoce.

VI - LES ANOMALIES RADIOLOGIQUES.

Elles font partie de la dysostose multiple et aucune des anomalies n'est spécifique. On retient leur caractère peu évolutif.

VII.- L'EXCRETION DES GAG URINAIRES.

Les GAG de type H.S., D.S., C.H.4S, C.H.6S sont excrétés en quantité excessive dans la mucopolysaccharidose de type VII. Le tableau VII, page 50 fait état des différentes maladies où l'on peut trouver une excrétion exagérée des GAG dans les urines (25).

En plus de ces données classiques on retrouve dans la littérature des malades ayant une excrétion exagérée de GAG avec exclusivement des chondroïtines sulfates. Mais il n'existe pas dans ces observations d'étude enzymatique précise. Il nous paraît important de les rapporter et on peut les grouper en 2 types biologiques selon qu'il y a excrétion de C.H.4 ou 6S.

NORMAL	trace HS. et CHS
MUCOPOLYSACCARIDOSE	
type I H	HS.++ DS.++
type II	HS.++ DS.++
type III A.B	HS.++
type IV IS	KS.++ (CS.+)
type V	HS+ DS
type VI	DS.++
type VII	CS.++ HS.+ DS.+
MUCOLIPIDOSE	
à GM1	(KS.+) oligosaccharides
manosidoses	oligosaccharides
fucosidose	KS.+

TABLEAU VII

Elimination urinaire des GAG. dans les mucopolysaccharidoses et les mucolipidoses.

- Avec excrétion de C.H.4S.

THOMPSON (62) rapporte l'observation d'une femme de 48 ans avec une petite taille, un retard mental, une brièveté du quatrième métacarpien, une dislocation des hanches et des anomalies vertébrales, gros foie et délôts cornéens, enfin cellules de surcharge sanguine.

Plus tard SPRANGER (59) rapporte les observations de deux soeurs au développement psychomoteur pratiquement normal mais avec apparition vers l'âge de 2 ans d'un retard staturopondéral, d'opacités cornéennes, d'hépatosplénomégalie et de raideurs articulaires ; radiologiquement discrète hypoplasie des régions inférieures des os iliaques. On retrouve dans les urines une élimination importante de C.H.4S. Un dosage enzymatique au niveau des cellules hépatiques ne montre pas de déficit en betaglucuronidase.

Une autre observation est rapportée par PHILLIPART avec les mêmes signes (52).

- Avec excrétion exagérée de C.H.6S.(53)

SCHIMKE étudie l'observation d'un enfant présentant une petite taille avec platyspondilie, côtes courtes, anomalies du bassin, opacités cornéennes, gros foie, associé à un syndrome néphrotique non identifié et une lymphopénie.

Il apparaît donc que l'élimination urinaire des GAG peut servir d'élément d'orientation valable mais ne doit pas être dissociée des autres éléments. D'autre part la qualité de l'excrétion ne permet pas de faire un meilleur pronostic ou d'expliquer certains signes cliniques ou radiologiques.

VIII - ETUDE ENZYMATIQUE.

Un déficit en betaglucuronidase leucocytaire peut être présent dans la mucopolidose de type II, mais dans cette dernière un déficit en d'autres hydrolases acides est associé. L'activité de la betaglucuronidase est élevée dans le sérum.

C - ETUDE GENETIQUE

I - MOYENS CONDUISANT A ADMETTRE LE MODE DE TRANSMISSION

1. EVALUATION DES POURCENTAGES DE MALADES DANS LES FRATRIES

- En divisant le nombre des malades (6) par le nombre d'enfant des fratries (13) on obtient un chiffre de 46 %.

- Méthode des probands.

Cette méthode consiste à exclure le proposant de chaque fratrie. La fréquence de la transmission est donnée par la formule suivante :

$\frac{Y - x}{X - x}$	- X = somme des enfants des fratries. - x = proband, le premier cas malade de chaque fratrie - Y = somme des malades.
-----------------------	---

Le chiffre obtenu est 12,5 %

2. LE SEXE.

4 filles pour 2 garçons.

3. FREQUENCE DE LA CONSANGUINITE.

La consanguinité n'est retrouvée que dans nos observations. Il ne ressort pas non plus la notion de consanguinité géographique.

La mucopolysaccharidose de type VII comme la plupart des hérédopathies métaboliques se transmet en récessivité non liée au sexe.

II - ETUDE DES HETEROZYGOTES.

Aucun élément clinique ne permet d'orienter dans le dépistage de cette affection. L'étude de l'excrétion des GAG dans les urines des membres de la famille que nous étudions n'apporte aucun élément nouveau.

Les parents sont hétérozygotes, le dosage de la betaglucuronidase a été fait chez tous les parents des malades. Les résultats figurent dans la figure 6, page 41. L'analyse des chiffres montre qu'il existe 3 ordres de grandeurs : le taux d'activité des parents est intermédiaire entre les taux des sujets normaux et les taux des malades.

Les taux d'activité dans les fibroblastes sont d'interprétation plus délicate, cela tient à la méthode de lecture, la confluence cellulaire gênant l'interprétation.

Le dosage de l'activité enzymatique de la betaglucuronidase a été pratiqué dans le sérum dans les observations A-B-II-III-IV.

Les chiffres permettent d'individualiser de façon certaine les sujets ayant un taux d'activité intermédiaire : ils représentent les hétérozygotes.

Cette méthode étant testée elle peut être utilisée pour la recherche des hétérozygotes : dans la famille de nos malades les autres enfants de la fratrie ont des taux d'activité intermédiaires, ils sont hétérozygotes. La détection des hétérozygotes est nécessaire en matière d'hérédité autosomique récessive. Elle permet un meilleur conseil génétique, on expliquera les risques d'un mariage entre cousins.

III - DEPISTAGE ANTENATAL.

L'étude ne peut être faite que sur le liquide amniotique : ce liquide est prélevé par amniocentèse à la 16ème semaine d'aménorrhée selon une technique bien codifiée (63). Le liquide à cette époque est assez abondant, environ 150 à 200 millilitres. Le risque maternel est nul, le risque foetal existe : avortement (1 % des cas au maximum), rupture prématurée de la poche des eaux et passage transplacentaire des hématies sont un risque beaucoup plus faible. On recueille environ 30 ml de liquide aux fins d'analyse.

Différentes méthodes sont possibles.

- Dosage des GAG.

Cette méthode n'est pas fiable pour la détection des mucopolysaccharidoses. WHITEMANN (65) propose d'utiliser la chondroïtine sulfate comme marqueur de l'excrétion foetale des GAG : cette méthode paraît inutilisable pour le type de maladie étudiée ici.

- Dosage de l'activité enzymatique (Tableau VIII, page 54).

Ce dosage n'est pratiqué que lorsqu'a été établi auparavant un diagnostic précis de l'anomalie métabolique touchant la famille.

La technique a été décrite dans les pages précédentes. Comme le montre le tableau l'activité enzymatique a été étudiée dans les cellules amniotiques en culture et aussi dans le surnageant. Les résultats montrent qu'il n'existe pas de déficit en betaglucuronidase, l'activité trouvée correspond à celle d'un enfant très probablement hétérozygote et à coup sûr indemne.

On souligne la fiabilité du dosage dans le surnageant, cette méthode originale permet d'obtenir un résultat rapide. Elle nécessite encore la vérification par les cellules amniotiques.

Nous avons eu la confirmation d'une fille en bonne santé, sans anomalies apparentes ; les dosages de l'activité enzymatique faits dans le sérum et les leucocytes confirment que l'enfant est hétérozygote (tableau V, page 31, Nera).

L'indication de l'amniocentèse dans notre observation est discutable puisque les enfants que nous décrivons mènent jusqu'à présent une vie normale. La famille a été avertie à ce sujet : on a souligné l'hétérogénéité de la maladie et l'absence de garantie évolutive. Les parents ont décidé de recourir à l'amniocentèse. Si la bonne évolution de nos malades se confirme; il n'est pas certain dans l'éventualité d'une future grossesse que sera pratiqué un tel dépistage.

	SURNAGEANT			CELLULES AMNIOTIQUES		
	NANOKATAL / LITRE			MICROKATAL / KILO de protéine		
	BETA GLUCURONIDASE	BETAGALACTOSIDASE	ALPHA-L-FUCOSIDASE	BETAGLUCURONIDASE	BETAGALACTOSIDASE	
- CONTROLE -						
NOMBRE	9	9	6	7	19	
MOYENNE	17	0,5	26,8	25	213	
VALEURS EXTREMES	9,2 - 34,8	0,3 - 0,85	11,2 - 56,8	14 - 41	120 - 350	
NERA	8,4	0,7	21,4	13	153	

TABLEAU VIII

DOSAGES DANS LE LIQUIDE AMNIOTIQUE D'ACTIVITE ENZYMATIQUE

IV - HETEROGENEITE DE LA MALADIE.

Les variations phénotypiques du déficit en betaglucuronidase avaient déjà été soulignées par BEAUDET (3) et le polyallélisme avait été mis en avant pour tenter d'expliquer ces faits (42).

L'explication des chimiodysplasies (26), que représentent les mucopolysaccharidoses entre autres maladies, fait appel à la variation de synthèse des protéines. Ce sont les méthodes immunochimiques qui permettent de progresser pour prouver l'altération enzymatique. La variation d'un gène de structure entraîne une variation ponctuelle par substitution d'un aminoacide juste à la place qui interfère avec l'activité catalytique de l'enzyme : le variant enzymatique perd son activité mais n'est pas totalement déficient. La découverte d'un anticorps antiprotéine normale qui forme un complexe avec l'enzyme (CRM ou cross reacting material) chez les porteurs de mucopolysaccharidose de type VII prouve qu'une forme de l'enzyme est présente. La découverte d'un CRM positif mais différent de celui des sujets normaux chez des hétérozygotes pour la mucopolysaccharidose de type VII tend à prouver qu'ils possèdent de l'enzyme normale et de l'enzyme variant. Ces études permettent d'exclure la possibilité d'un trouble d'un gène régulateur (4, 49).

D - LE TRAITEMENT.

Il faut distinguer le traitement symptomatique et le traitement à visée spécifique.

I - LES TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES.

1. LES TRAITEMENTS ORTHOPEDIQUES.

Dans notre première observation ils sont au premier plan, l'existence d'anomalies osseuses visibles ou non radiologiquement doit imposer une surveillance stricte.

Les problèmes posés par la colonne vertébrale pour l'instant sont mineurs.

2. LE TRAITEMENT CHIRURGICAL DE LA DYSMORPHIE FACIALE.

Il peut être envisagé si l'on pense que la dysmorphie est en partie un élément génétique.

3. LES PROBLEMES D'INFECTION ORL ET PULMONAIRE.

Ils méritent une attention toute particulière compte tenu de leur fréquence, leur traitement est sans originalité : aucun produit n'a été actuellement testé pour modifier localement les sécrétions.

4. HYGIENE.

Si la gymnastique est possible elle sera proposée. On donnera des conseils de régime afin d'éviter une surcharge pondérale chez des malades pouvant potentiellement évoluer avec des complications cardiovasculaires.

5. SURVEILLANCE.

Une surveillance annuelle semble nécessaire avec un examen clinique bien conduit notamment cardiaque, de même examen de la vision avec lampe à fente, fond d'oeil, électrorétinogramme.

II - LE TRAITEMENT SUBSTITUTIF.

1. BASE THEORIQUE (33).

L'absence de dégradation d'un substrat est secondaire à un déficit enzymatique. L'apport de l'enzyme manquante doit corriger le métabolisme anormal. L'enzyme administrée doit être celle qui manque, pure, concentrée, stable et elle doit arriver à son lieu d'action.

Un des problèmes consiste dans le maintien le plus longtemps possible d'une activité enzymatique suffisante. Des études faites chez la souris déficitaire en betaglucuronidase et utilisant des globules rouges comme donneurs d'enzyme sont encourageantes (62). D'autres auteurs ont proposé d'utiliser les liposomes comme transporteurs.

La forme de l'enzyme à apporter est fonction des organes atteints : une atteinte des organes possédant un système réticuloendothélial développé comme le foie ou la rate nécessite une enzyme différente de celle à apporter dans une surcharge osseuse.

La nécessité de trouver un matériel qui soit actif en étant le moins antigénique possible représente une autre difficulté. Récemment BELL (4) utilisant une méthode immunoenzymatique, a montré sur des fibroblastes de malades porteurs de déficit en betaglucuronidase et sur ceux de sujets hétérozygotes que l'enzyme extraite du lapin est la moins antigénique pour une activité par exemple identique à l'enzyme placentaire.

L'enzyme apportée ne doit pas être nocive : NOAFUMI NAGASUE (49) a parlé de la possible toxicité de la betaglucuronidase qui pourrait engendrer des troubles de la coagulation et des douleurs articulaires mais dans ces observations l'enzyme était présente dans le sang en grande quantité après cryochirurgie, rendant discutables les résultats donnés.

2. APPORT DE L'ENZYME ET RESULTATS.

Les données que nous rapportons ne concernent pas le cadre particulier de la mucopolysaccharidose de type VII mais d'autres mucopolysaccharidoses.

Enzyme d'origine humaine.

Le plasma a été utilisé (10, 51) avec ou sans congélation. La dose donnée varie selon les auteurs : certains font 50 ml/kg à intervalle de 4 à 12 semaines, d'autres 6 ml/kg en 48 heures tous les mois, d'autres enfin 25 ml/kg une fois par semaine.

Seul le plasma frais est actif, il ne doit pas avoir été congelé (14). Les principales modifications notées par les auteurs sont une modification des GAG urinaires avec l'apparition de produits de faible poids moléculaire. Une diminution de la congestion nasale est souvent signalée. La diminution des signes de surcharge est très variable. WINAND (66) signale une diminution des opacités cornéennes. DI FERRANTE (14) mentionne une diminution de l'hépatomégalie et la disparition des cellules de Alder Reilly. HUSSELS (33) trouve une nette amélioration de la rétinite pigmentaire qui est une complication classique des maladies de surcharge.

La transfusion de leucocytes HLA identiques a été étudiée dans un cas de maladie de San Filippo type B sans amélioration à long terme des manifestations cliniques ou biologiques (47).

DEAN et MUIR (12) en 1975 constatent chez un sujet porteur de maladie de Hunter ayant reçu une greffe de peau (peau prélevée chez ses parents HLA compatible) une apparition dans les urines de produits de dégradation des GAG : la greffe est rejetée au 3ème mois. Les mêmes auteurs publient en 1976 (11) le résultat d'une transplantation de fibroblastes chez un sujet porteur d'une maladie de Hunter. Les fibroblastes sont apportés en greffe sous-cutanée à partir de fibroblastes cutanés, le fragment cutané a été prélevé sur une soeur HLA compatible, peut être hétérozygote ; l'enfant malade est préparé par un traitement immunosuppresseur (Prednisolone et Azathioprine). Les résultats sont suivis sur 300 jours : apparition de GAG à faible poids moléculaire dans les urines, cliniquement on note seulement une diminution du volume hépatique et l'absence d'aggravation de la maladie.

Il n'y a pas actuellement de traitement efficace des mucopolysaccharidoses. Il n'y a pas d'indication actuellement de traitement chez nos malades, l'apparition de complications par exemple sensorielles ou cardiaques pourrait nécessiter qu'on l'envisage.

CONCLUSION

Deux observations personnelles de mucopolysaccharidoses de type VII concernant deux soeurs sont rapportées. Notre étude précise les signes cliniques, biologiques et génétiques de cette affection.

Chez la proposante, 4ème enfant de la fratrie, une maladie de surcharge est suspectée dès la période néonatale sur une dysmorphie faciale, des pieds bots varus équins, un aspect boudiné des extrémités, des calcifications ponctuées au niveau du calcanéum et de la colonne cervicale. A 18 mois le développement staturopondéral et psychomoteur est normal, le faciès est remarquablement plat et il existe une cyphose dorsolombaire ; on ne retient pas de signes de surcharge, ni d'anomalies oculaires ou hématologiques. Les anomalies radiologiques concernent principalement la colonne cervicale et lombaire et le bassin.

La deuxième observation concerne une fille de 4 ans chez qui l'affection non soupçonnée antérieurement ne comporte qu'une dysmorphie faciale et des anomalies squelettiques modérées.

L'étude biologique a comporté principalement :

- l'étude de l'élimination des glycosaminoglycans,
- l'étude de la betaglucuronidase et d'autres hydrolases acides lysosomiales dans le sérum, les leucocytes et les fibroblastes d'origine cutanée.

Chez les deux malades on trouve :

- une excrétion exagérée de chondroïtine 4 sulfate et de chondroïtine 6 sulfate,
- l'activité de la betaglucuronidase est effondrée dans les trois matériels étudiés alors que les autres hydrolases acides ont une activité normale. L'étude enzymatique permet de porter le diagnostic chez la proposante et de reconnaître l'affection chez la soeur.

Les parents, nord-africains, sont consanguins, ils ne présentent pas d'anomalie clinique. L'activité de la betaglucuronidase dans leur sérum est intermédiaire entre celle du témoin et celle des malades. L'expression enzymatique de l'hétérozygotisme est ~~montrée~~ dans les leucocytes et les fibroblastes. L'étude enzymatique montre que les deux autres enfants sont hétérozygotes.

Au cours d'une cinquième grossesse après amniocentèse à la seizième semaine d'aménorrhée, une atteinte foetale est exclue par les résultats de l'étude enzymatique obtenus aussi bien sur le surnageant que les cellules amniotiques en culture. Le diagnostic est confirmé à la naissance par les données cliniques et l'étude biologique.

La mucopolysaccharidose de type VII est une affection rare, quatre observations ayant été rapportées dans la littérature avant les deux observations personnelles. De leur analyse il ressort qu'il est impossible actuellement de définir un phénotype précis de l'affection, le fait tient certainement au petit nombre des observations recueillies jusqu'ici mais peut être lié à l'hétérogénéité du génotype de l'affection. La transmission suit le mode récessif autosomique, il apparaît que le sérum représente le matériel d'étude le plus simple et le plus fiable pour la détection de la maladie et de l'hétérozygotisme.

* *montrée*

Un diagnostic antenatal a été fait pour la première fois dans notre observation. Son indication prête à discussion. Sa réalisation apparaît relativement aisée. Le surnageant constitue un matériel d'étude valable, mais pour l'instant l'étude sur les cellules du liquide amniotique est encore nécessaire pour l'affirmation du diagnostic antenatal.

Aucun traitement de l'affection n'est actuellement entrepris en dehors des mesures thérapeutiques symptomatiques, orthopédiques en particulier.

Professeur LARBRE.

Le Président de la Thèse

Vu, le Directeur de l'U.E.R. Sud-Ouest

Vu et Permis d'Imprimer

Lyon, le 19 août 1977

Le Président de l'Université Claude Bernard
Président du Comité de Coordination des
Etudes Médicales

D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ANDRE J.M.
Les dysplasies vasculaires systématisées.
L'expansion scientifique française, Paris, 1973.
- 2 - BABIN J.P., MARTIN CL.
La maladie congénitale des épiphyses ponctuées. (A propos de 5 observations personnelles).
Méd. infant. (1975), 82 : 83-97.
- 3 - BEAUDET A.L., DI FERRANTE N.M., FERRY G.D., NICHOLS B.L., MULLINS C.E.
Variation in the phenotypic expression of betaglucuronidase deficiency.
J. Pediat. (1975) 86 : 388-394.
- 4 - BELL C.E., SLY W.S., BROTH F.E.
Human B-glucuronidase deficiency mucopolysaccharidosis.
J. clin. Invest. (1977) 59 : 97-105.
- 5 - CHERN C.J., CROCE C.M.
Assignment of the structure gene for human betaglucuronidase to chromosome 7 and tetrameric association of subunits in the enzyme molecule.
Amer. J. hum. Genet. (1976) 28 : 350-356.
- 6 - COHEN-SOLAL J., FAURE Cl., SARUT S., LOUBRY P., MORENO J.L., LEJEUNE Cl., MANDE R.
Un cas de forme majeure de maladie des épiphyses ponctuées avec étude histologique.
Ann. Pédiat., Paris (1968) 45 : 697-704.
- 7 - CONSTANTOPOULOS G., DERAKAN A.S.
Chemical definition of the mucopolysaccharidosis.
Clin. chim. Acta (1975) 59 : 321-325.
- 8 - CONTRACTOR S.F., SHANE.
Purification and characterization of lysosome betaglucuronidase from human placenta.
Biochem. J. (1972) 128 : 11-18.
- 9 - DANES S.B., DEGNAN M.
Different clinical and biochemical phenotypes associated with betaglucuronidase deficiency.
In Birth Defects : Orig. Art. Ser. D. Bergsma ed. Skeletal Dysplasias, Vol. X p. 251 (The National Foundation-March of Dimes. New-York. 1974).
- 10 - DANES S.B.
The influence of plasma infusions with the Hurler syndrome during the first 18 months of life.
In Birth Defects : Orig. Art. Ser. D. Bergsma ed. Skeletal Dysplasias, Vol. X p. 230 (The National Foundation-March of Dimes. New York. 1974).

- 11 - DEAN P.F., MUIR H.
Enzyme replacement therapy by fibroblast transplantation in a case of Hunter syndrome.
Nature, Lond. (1976) 261 : 323-325.
- 12 - DEAN P.F., MUIR H.
Increased breakdown of glycosaminoglycans and appearance of corrective enzyme after skin transplant in Hunter syndrome.
Nature, Lond. (1975) 257 : 609-612.
- 13 - DE DUVE C., PRESSMAN B.C., GIANETTO R., WATTIAUX R., APPELMANS F.
Tissue fractionation studies-6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue.
Biochem. J. (1968) 60 : 604-617.
- 14 - DI FERRANTE N.M., NICHOLDS Ph and B.C.
Comments on the plasma treatment of the mucopolysaccharidosis.
In Birth Defects : Orig. Art. Ser. D. Bergsma ed. Skeletal Dysplasias. Vol. X p. 234 (The National Fundation-March of Dimes. New York. 1974).
- 15 - DI SANT'AGNESE P.A., DAVIS B.P.
Research in cystic fibrosis.
New Engl. J. Med. (1976) 295 : 481-485.
- 16 - DORFMAN A., MATALON R.
The mucopolysaccharidoses a review.
Proc. Soc. Acad. Sci. USA (1973) 73 : 630-637.
- 17 - DOUGLAS C., NOWAK J., DANES S.B.
Mucopolysaccharides in urine during normal human development.
Pediat. Res. (1973) 7 : 724-727.
- 18 - DYGGUE H.V., MELCHIOR J.C., CLAUSEN J.
Morquio Ulrich's disease : an inborn error of metabolism ?
Arch. Dis. Childh. (1962) 37 : 525-534.
- 19 - FRANCAVANTI J.C., HALL C.W., NEUFELD E.F.
The defect in Hurler's and Hunter's syndrome. Mutuel correction of the defect in cultures fibroblasts.
Science (1968) 162 : 570-572.
- 20 - GRANCK U.
The human gene for betaglucuronidase is on chromosome 7.
Amer. J. hum. Genet. (1976) 28 : 357-362.
- 21 - GADJOS A.
Les mucopolysaccharidoses.
Nouv. Presse méd. (1977) 6 : 1745-1752.
- 22 - GEHLER J., CANTZ M., TORKSDORF L., SPRANGER J., GILBERT E., DRUBE H.
Mucopolysaccharidosis VII : Betaglucuronidase deficiency.
Humangenetik (1974) 23 : 149-158.
- 23 - GLASER J.H., ROOZEN K.J., BROTH F.E., SLY W.
Multiple isoelectric and recognition of human betaglucuronidase activity.
Arch. Biochem. Bioph. (1975) 166 : 536-542.

- 24 - GLASER J.H., SLY W.
Betaglucuronidase deficiency mucopolysaccharidosis : methods for enzymatic diagnosis.
J. lab. clin. Med. (1973) 82 : 969-977.
- 25 - GORDON B.A., FELEKIV V., BUDREAU C.H., TYLER L.
Defective heparan sulfate metabolism in the San Filippo syndrome and assey of this defect in the assessment of the mucopolysaccharidosis patient.
Clin. Bioch. (1975) 8 : 184-193.
- 26 - GUIBAUD P.
Les chimiodysplasies ou malformations moléculaires.
Rev. Prat., Paris (1974) 24 : 3481-3488.
- 27 - HALL C.W., CANTZ M., NEUFELD J.H.
Betaglucuronidase deficiency mucopolysaccharidosis : studies in cultured fibroblasts.
Arch. Biochem. Bioph. (1973) 155 : 32-38.
- 28 - HAVEZ R., BOERSMA A., DUBOIS B., DEGAND P.
Dosage et identification des mucopolysaccharides urinaires.
Revue de Pédiatrie (1971) 7 : 679-684.
- 29 - HERS H.G.
Inborn lysosomal diseases.
Gastroenterology (1965) 48 : 625-633.
- 30 - HORS-CAYLA Mc., MAROTEAUX P.
Etude des glycosaminoglycans de cellules hubrides et de fibroblastes de mucopolysaccharidoses et de lipidoses. Signification de la méta-chromasie.
Ann. Biol. clin. (1974) 32 : 103-108.
- 31 - HUMBEL R.
Méthodologie d'étude des glycosaminoglycanes urinaires.
Minerva pediat. (1975) 27 : 475-477.
- 32 - HUMBEL R.
Biochemical screening for mucopolysaccharidosis mucolipidosis and oligosaccharidosis.
Helv. Paediat. Acta (1975) 30 : 191-200.
- 33 - HUSSELS I.E., EIKMAN E.A., KENION K.R., MAC KUSICK V.A.
Treatment of mucopolysaccharidosis.
In Birth Defects : Orig. Art. Ser. D. Bergsma ed. Skeletal Dysplasias. Vol. X p. 212 (The Nationale Fundation-March of Dimes. New York. 1974).
- 34 - JEUNE M., LARBRE F., CARRON R., COUETTE I.
La maladie des épiphyses pointillées ou calcinose foetale épiphysaire chondrodystrophiante.
Arch. franç. Pédiat. (1953) 10 : 914-942.
- 35 - JOANNARD A., BOST M., PONT J., DIATERLEN M., FRAPPAT P., BEAUDOING A.
La mucolipidose type II.
Pédiatrie, Lyon (1974) 29 : 825-841.

- 36 - KOLODNI E.H.
Current concepts in genetics. Lysosomal storage disease.
New Engl. J. Med. (1976) 294 : 1217-1220.
- 37 - LALLEY P.A., SHOWS T.B.
Lysosomal and microsomal glucuronidase : genetic variant allelic
electrophoretic mobility of both hydrolases.
Science (1974) 185 : 442-444.
- 38 - LANDING B.H., SIVERMAN F.N., CRAIG J.M., JALOBY M.D., LAHEY M.E., CHADWICK
D.L.,
Familial neurovisceral lipidosis.
Amer. J. Dis. Child. (1964) 108 : 503-522.
- 39 - LARBRE F., CHAZALETTE J.P., GUIBAUD P., RICHARD P., PERNOUD N., VANIER M.T.
La gangliosidose GM1 (forme infantile) à propos de 5 observations.
Lyon méd. (1973), 229 : 335-346.
- 40 - LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. et coll.
Protein measurement with the Folin phenol reagent
J. Biol. Chem. (1951) 193 : 265-275.
- 41 - MAC KUSICK V.A.
Heritable disorders of connective tissue
Mosby ed. (1972) 521-686.
- 42 - MAC KUSICK V.A., HOWELL R.R., HUSSELS I.E., NEUFELD E.F., STEVENSON R.E.
Allelism, non allelism and genetic compounds among the mucopolysac-
charidoses.
Lancet (1972) 1 : 993-996.
- 43 - MAC KUSICK V.A., RUDDLE F.H.
The status of the gene map of the human chromosomes.
Science (1977) 196 : 390-405.
- 44 - MANUEL Y., AIGRIN C., JEANNIN M.
Etude du taux des mucopolysaccharides urinaires chez les enfants
d'âge scolaire de la région Rhône-Alpes.
Compte rendu de fin de contrat de recherche. Institut Pasteur
Lyon 1974.
- 45 - MARCHAL C., WORMS A.M., FALL M., GRIGNON G., PERDOT C.
Coeur et mucopolysaccharidoses.
Méd. infant. (1973) 80 : 9-25.
- 46 - MAROTEAUX P., HUMBEL R.
Les oligosaccharidoses
Arch. franç. Pédiat. (1976) 33 : 641-643.
- 47 - MOSER H.W., O'BRIEN J.S., ATKINS FULLER, KLIMAN A., JANOWSKAS, RUSSEL P.S.,
BARTSOLAS C.S., COSIMI B., DULANEY J.R.
Infusion of normal HLA identical leukocytes in San Filippo disease
type B estimate of infused cell survival cytogenetic techniques :
effects on glucosaminoglycans excretion in the urine.
Arch. Neurol. (1974) 31 : 329-337.

- 48 - NAOFUMI NAGASUE
Release of lysosomal enzyme betaglucuronidase after hepatic cryo-surgery.
Arch. Surg., Chicago (1975) 110 : 713-716.
- 49 - NYHAN W.L.
Genetic heterogeneity of human enzymes.
New Engl. J. Med. (1976) 294 : 781-782.
- 50 - ONISAWA J., GLETTING Y.
Effects of prednisolone on urinary and mucopolysaccharid excretion in genetic mucopolysaccharidosis.
Paedi. Univ. (1970) 17 : 15-27.
- 51 - ORII T., YAMAGUCHI M., MINAMIR R., NAKAO I. and T.
Influence of fresh plasma infusion on patients with genetic mucopolysaccharidosis.
J. exp. Med. (1974) 114 : 385-392.
- 52 - PHILIPPART M., SUGARMAN G.I.
Chondroitin 4S mucopolysaccharidosis. A new variant of Hurler syndrome.
Lancet (1969) 2 : 854.
- 53 - SCHIMKE N., HORTON W.A., KING C.R., MARTIN N.L.
Chondroitin 6 sulfate mucopolysaccharidosis.
In Birth Defects : Orig. Art. Ser. D. Bergsma ed. Skeletal Dysplasias. Vol. X p. 258 (The National Foundation-March of Dimes. New York, 1974).
- 54 - SLY W., GREENE A.G., CORIELL L.L.
Betaglucuronidase deficiency mucopolysaccharidosis : repository identification.
Cytogenetics (1975) 15 : 410-412.
- 55 - SLY W., QUINTON B.A., MAC ALISTER W.H., RIMOIN D.L.
Betaglucuronidase deficiency : report of clinical, radiologic and biochemical features of a new mucopolysaccharidosis.
J. Pediat. (1973) 82 : 249-257.
- 56 - SMITH R.J., SABIN C., GILCHREST H., WILLIAMS S.
Effects of antiinflammatory drugs on lysosomes and lysosomal enzymes from rat liver.
Biochem. Pharmacol. (1976) 25 : 2171-2177.
- 57 - SPRANGER J.W.
Mucopolysaccharidosis and mucolipidosis;
Ann. Radiol. (1969) 12 : 981-990.
- 58 - SPRANGER J.W., MAROTEAUX P., KALOUSTIAN U.M.
The Dyggve Melchior Clausen syndrome.
Radiology (1975) 114 : 415-421.

- 59 - SPRANGER J.W., SCHUSTER W., FRET TAG F.
Chondroitin 4 sulfate mucopolysaccharidosis.
Helv. paediat. Acta (1971) 26 : 387-396.
- 60 - STANESCU V., STANESCU R., MAROTEAUX P.
Etude morphologique et biochimique du cartilage de croissance dans
les ostéochondrodysplasies.
Arch. franç. Pédiat. (1977) 34 : supplément I.
- 61 - THOMPSON G.R., NELSON N.A., CASTOR W.C., GROBELNY S.L.
A mucopolysaccharidosis with increased urinary excretion of chon-
droitin 4 sulfate.
Ann. intern. Med. (1971) 75 : 421-426.
- 62 - THORPE S.R., FIDDLER M.B., DESNICK R.J.
Enzyme therapy. V : in vitro. Fate of erythrocyte-entrapped betaglu-
curonidase in betaglucuronidase deficient mice.
Pediat. Res. (1975) 9 : 918-923.
- 63 - THOULON J.M., GUIBAUD P.
Le dépistage antenatal des malformations par l'amniocentèse précoce.
Cah. méd. (1976) 33 : 2285-2287.
- 64 - TOMINO S., PAIGEN K.
Esagyn protein complexed with microsomial betaglucuronidase.
J.Biol. Chem. (1975) 250 : 1146-1148.
- 65 - WHITEMAN P.
Prenatal diagnosis of mucopolysaccharidoses.
Lancet (1976) 2 : 1249.
- 66 - WINAND R.J.
Effects of plasma infusion on clinical evolution and urinary glyco-
saminoglycans composition in mucopolysaccharidoses.
In Birth Defects : Orig. Art. Ser. D. Bergsma ed. Skeletal Dyspla-
sias. Vol. X p. 226 (The National Foundation-March of Dimes. New
York, 1974).

